UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO

SOLANGE MARIA MAGALHÃES DA SILVA PORTO

EFEITO DO TREINAMENTO FÍSICO MODERADO EM PARÂMETROS METABÓLICOS E IMUNOLÓGICOS DE RATOS ADULTOS OBESOS

RECIFE
2011

Solange Maria Magalhães da Silva Porto

Efeito do treinamento físico moderado em parâmetros metabólicos e imunológicos de ratos adultos obesos

Recife
2011

Solange Maria Magalhães da Silva Porto

Efeito do treinamento físico moderado em parâmetros metabólicos e imunológicos de ratos adultos obesos

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

Orientadora: Profª. Dra. Célia Maria Machado Barbosa de Castro

Recife

2011

Porto, Solange Maria Magalhães da Silva
Efeito do treinamento físico moderado em parâmetros metabólicos e imunológicos de ratos adultos obesos / Solange Maria Magalhães da Silva Porto. – Recife: O Autor, 2011.

162 folhas: il., fig.; 30 cm.

Orientador: Célia Maria Machado Barbosa de Castro

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Nutrição, 2011.

Inclui bibliografia e anexos.

1. Dieta hiperlipídicos. 2. Sistema imunológico. 3. Obesidade. 4. Treinamento físico moderado. I. Castro, Célia Maria Machado Barbosa de. II.Título.

UFPE

613.7 CDD (20.ed.) CCS2011-105

Solange Maria Magalhães da Silva Porto

Efeito do treinamento físico moderado em parâmetros metabólicos e imunológicos de ratos adultos obesos.

Tese aprovada em: 03/03/2011

Banca examinadora:

Célia Ma. Machado B. de Castro

Prof.ª Dra. Célia Maria Machado Barbosa de Castro

Universidade Federal de Pernambuco

Tânia Lúcia M. Stamford

Prof.ª Dra. Tânia Lúcia Montenegro Stanford

Universidade Federal de Pernambuco

Prof.º Dr. Carlos Augusto Carvalho de Vasconcelos

Universidade Federal de Pernambuco

Maria do Amparo Andrade

Prof.ª Dra. Maria do Amparo Andrade

Universidade Federal de Pernambuco

Prof.º Dr. Fabiano Ferreira

Universidade Federal de Pernambuco

Recife

2011

Dedico este trabalho:

Aos meus pais **Carlos** e **Regina** (*in memorian*) por terem contribuído de forma fundamental para minha formação como pessoa e como profissional.

Aos meus filhos **Vanessa** e **Eduardo** como exemplo de superação.

A mim mesma por todo esforço desprendido, pelos caminhos que trilhei e por todo aprendizado que adquiri, sobretudo com as pessoas que tive o prazer de conviver e de compartilhar experiências, as quais contribuíram para meu crescimento pessoal e profissional, e por sempre acreditar no meu sonho.

Agradecimentos

A Deus por me dar condições de enfrentar os diversos desafios que a vida nos reserva, iluminando, guiando meu caminho e protegendo-me.

Em especial, a minha orientadora e amiga Prof[a.] Célia Maria Machado Barbosa de Castro que aceitou o desafio da realização desse trabalho, com a qual aprendi a me interessar por Imunologia e que me conduziu nessa jornada fascinante com dedicação, paciência, persistência, compreensão, sutileza e sabedoria, mostrando-me os caminhos a serem seguidos até a conclusão deste estudo.

Às colegas do Doutorado Rosângela Rosendo e Karla Melo pelo comprometimento, dedicação, profissionalismo e ética, com as quais compartilhei momentos importantes na minha vida, sobrepujando alguns contratempos, sem os quais seria impossível a realização deste estudo.

Aos colegas de turma Marco, Lisiane, Flávia, Viviany e Juliany, com os quais compartilhei momentos alegres, tristes, difíceis, prazerosos e importantes na minha vida.

Aos estagiários Etiene, Vanessa, Bruno Sampaio, Thaiz, Judith, Raphael e Péricles pelo comprometimento e dedicação fundamental para a realização deste estudo.

Aos colegas, funcionários e estagiários e todo o pessoal dos laboratórios (LIKA, LAFFINT e LEAAL) que sempre colaboraram com muita dedicação, paciência e disponibilidade para a realização deste estudo: Michelle, Rebecca, Juliana, Fátima, Natália, Bruno Galvão, Ketlin, Renata, Thales, Guilherme, Taciana, Ketlin, Bruno Sampaio, Amanda.

Aos funcionários e professores do Departamento de Pós-Graduação em Nutrição da UFPE, que contribuíram das mais diversas formas na trilha deste caminho, especialmente: as Prof[a] Elizabeth Nascimento, Prof[a.] Débora Nepomuceno, Prof[a.] Francisca Bion, Dr. Edeones França, José Paulino, Ana Maria, Roberto, Sônia, D. Lourdes.

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Fisiologia da Nutrição Naíde Teodósio (LAFFINT) do Departamento de Nutrição do Centro de Ciências da Saúde em colaboração com o Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA), no Setor de Microbiologia Clínica, da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE); e recebeu apoio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e da Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE).

“Pensamos demasiadamente

Sentimos muito pouco

Necessitamos mais de humildade

Que de máquinas.

Mais de bondade e ternura

Que de inteligência.

Sem isso,

A vida se tornará violenta e

Tudo se perderá.”

Charles Chaplin

Resumo

O objetivo desse estudo foi avaliar o efeito do treinamento físico moderado em parâmetros metabólicos e imunológicos de ratos adultos obesos. Ratos machos *Wistar* (n=40) foram mantidos em ciclo claro/escuro de 12/12 h. Após o desmame metade dos animais foi alimentada com dieta hiperlipídica (n=20) e a outra metade consumiu dieta normoprotéica, Labina (n=20), durante 18 semanas. Aos 90 dias de vida, metade dos animais de cada grupo foi submetida a treinamento físico moderado, constituindo-se os grupos: Hiperlipídico (H), Hiperlipídico Treino (HT), Controle (C) e Controle Treino (CT). Os animais treinados foram submetidos a um programa de natação (8 semanas; 5 dias/semana; 45 min/dia), com aumento progressivo da carga conforme o peso corporal, até atingir um máximo de 4%. Vinte e quatro horas após o último treino foram realizadas coletas de sangue para contagem total e diferencial de leucócito e após a oitava semana de treino, realizou-se lavado broncoalveolar no pulmão dos ratos, empregado para avaliação da taxa de fagocitose, da produção de óxido nítrico e da produção de superóxido, também foi realizada a microbiota da cavidade oral e ainda três parâmetros bioquímicos: glicose, triglicerídeo e colesterol total. Os animais e o consumo alimentar foram pesados regularmente e ainda, a gordura visceral foi retirada e pesada. A dieta hiperlipídica não promoveu aumento ponderal, o consumo alimentar do grupo H foi menor, apesar de ter apresentado elevado consumo calórico, a gordura visceral desse grupo foi 3 vezes maior do que no grupo C. Os parâmetros bioquímicos apresentaram modificações em relação ao treino e ao sedentarismo. A contagem total das células imunes não apresentou alterações, porém, estas células perderam 31% da função de fagocitose após consumo da dieta hipercalórica e hiperlipídica. Quanto às bactérias da microbiota oral, no grupo H houve menor crescimento, com cerca de 80 mil colônias a menos, além de alteração no padrão das bactérias encontradas. Logo, os resultados encontrados poderão contribuir para aprofundar o conhecimento sobre as alterações orgânicas causadas pela obesidade. As evidências disponíveis indicam que o treino moderado tem efeitos moduladores importantes na dinâmica e na função das células imunes, atenuando a intensidade das respostas do organismo. Assim, o treinamento físico moderado fortalece o sistema imune, promovendo benefícios à saúde.

Palavras-chave: Dieta hiperlipídica e hipercalórica; Sistema imunológico; Microbiota oral; Bioquímica; Treinamento Físico Moderado.

Abstract

The aim of this study was to evaluate the effect of moderate physical training on metabolics and immunological parameters of adult mice obese. Male Wistar rats (n = 40) were maintained in light / dark cycle of 12/12 h. After weaning, half the animals were fed with high fat diet (n = 20) and the other half consumed a normal protein diet, Labina (n = 20) for 18 weeks. At 90 days old, half the animal in each group was subjected to physical training, being the groups: Lipids (L), Lipids Training (LT), Control (C) and Control Training (CT). Trained animals were submitted to a swimming program (8 weeks, 5 days / week, 45 min / day), progressively increasing the load as body weight, up to a maximum of 4%. Twenty-four hours after the last training session, there were blood sampled for total and differential count of leukocytes, and after eight weeks of training took place in the lung lavage of rats used to evaluate the rate of phagocytosis of production of nitric oxide and superoxide production was also performed oral microbiota and three biochemical parameters: glucose, triglycerides and total cholesterol. Animals and food intake were weighed regularly and even, visceral fat was removed and weighed. The diet did not promote weight gain, food intake of group H was lower, despite having high caloric intake and visceral fat in this group was 3 times higher than in group C. The biochemical parameters showed changes in relation to training and inactivity. The total count of immune cells did not change, however, these cells lost 31% of the phagocytosis function after consumption of high calorie diet and hyperlipidemic. As for the bacteria from the oral, group H had lower growth, with about 80 000 colonies unless, in addition to changes in the pattern of the bacteria found. Therefore, the results could help to deepen our knowledge of organic changes caused by obesity. The available evidence suggests that moderate training has important modulators effects on the dynamics and function of immune cells, reducing the intensity of the body's response. Thus, physical training strengthens the immune system, promoting health benefits.

Key-words: High fat diet and calorie, Immune system, Oral microbiota, Biochemistry, Moderate Physical Training.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1.	Organograma geral da distribuição dos grupos.	57
Figura 2.	Ingredientes da dieta hipercalórica e hiperlipídica	58
Figura 3.	Dieta hipercalórica e hiperlipídica pronta Construção da curva padrão para dosagem de óxido nítrico.	59
Figura 4.	Protocolo de Natação (8 semanas – 5 dias/semana – 45 min/dia)	60
Figura 5.	Tanque de natação (visão externa)	61
Figura 6.	Tanque de natação (visão interna)	61
Figura 7.	Colocação do peso na cauda	61
Figura 8.	Rato em treinamento de natação	61
Figura 9.	Rato em controle de estresse agudo	61
Figura 10.	Rato em aquecimento pós-treino	61
Figura 11.	Coleta de sangue para contagem total e diferencial de leucócitos	63
Figura 12.	Hemocitômetro para contagem de leucócitos totais	63
Figura 13.	Obtenção dos macrófagos do LBA (Traqueostomia)	65
Figura 14.	Lavado coletado	66
Figura 15.	Centrifugação do lavado	66
Figura 16.	Lavado centrifugado	66

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Classificação de sobrepeso/obesidade em adultos de acordo com o IMC	24
Tabela 2.	Ingredientes necessários para confecção de 4,0 kg de dieta hipercalórica	58
Tabela 3.	Composição centesimal das dietas padrão e hiperlipídica	59
Tabela 4	Construção da curva padrão para dosagem de óxido nítrico	68

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACMS	Colégio Americano de Medicina Esportiva
Acrp 30	Adiponectina
ACTH	Hormônio Adrenocorticotrófico
AGL	Ácido graxo livre
AGS	Ácido graxo saturado
AMP	Adenosina monofosfato
ANOVA	Análise de variância
ASP	Proteína estimuladora de acilação
ATP	Adenosina trifosfato
BHI	Brain Heart Infusion
C	Carbono
C	Controle
CT	Controle treino
Cs	Citocinas
CD4+; CD8+	Linfócitos imaturos duplamente marcados
CDC	Centro para controle e prevenção de doenças
CH_3	Metil
COBEA	Comitê brasileiro de experimentação animal
COOH	Carboxila
CRH	Hormônio liberador de corticotrofina
CT	Colesterol total
DHA	Ácido docohexaenóico
EDTA	Ácido etileno diaminotetracético
EPA	Ácido eicosapentanóico
EPI	Epididimal
g	Grama
H	Hiperlipídico
HDL	Lipoproteínas de alta densidade
HT	Hiperlipídico treino
IL	Interleucina
IL-1β	Interleucina 1 beta

IL-6	Interleucina-6
IL-8	Interleucina-8
ILAM-1	Moléculas de adesão
IMC	Índice de massa corporal
Kcal	Quilocaloria
LBA	Lavado bronco alveolar
LDL	Lipoproteínas de baixa densidade
LEAAL	Laboratório de Experimentação e Análise de Alimentos
Lp	Leptina
LPS	Lipopolissacarídio
LT	Leucócitos totais
MC4R	Receptor de melanocortina
mL	Mililitro
mM	Milimol
MUFA	Monoinsaturado
NaCl	Cloreto de sódio
$NaNO_2$	Nitrato de sódio
NCEP	National Cholesterol Education Program
NK	Natural Killer
NPY	Neuropeptídeo Y
OMS	Organização mundial de saúde
PAI-1	Inibidor do ativador de plasminogênio
PCR	Proteína C-reativa
POF	Pesquisa de orçamento familiar
POMC	Proopiomelanocortina
PUFAs	Poliinsaturados
RCQ	Relação da circunferência cintura-quadril
RET	Retroperitoneal
RNAm	Ácido Ribonucleico mensageiro
RPMI 1640	Meio de cultura
SM	Síndrome Metabólica
SNS	Sistema Nervoso Simpático
SST	Solução salina tamponada

T	Triglicerídeos
TFM	Treinamento físico moderado
TNF-α	Fator de necrose tumoral alfa
UFC	Unidade formadora de colônias
VEGF	Fator de crescimento do endotélio vascular
VLDL	Lipoproteína de densidade muito baixa
VO_2 max	Consumo máximo de oxigênio
WHO	World Health Organization

SUMÁRIO

1	**APRESENTAÇÃO**	18
2	**REVISÃO DA LITERATURA**	23
2.1	A etiologia da obesidade	23
2.2	Obesidade monogênica	25
2.3	POMC e sinalização de melanocortina	26
2.4	Obesidade poligênica	26
2.5	Fatores ambientais e obesidade	27
2.6	Hábitos alimentares	27
2.7	Nutrição materna e obesidade	28
2.8	Obesidade central ou visceral	29
2.9	Dieta hiperlipídica como modelo de indução da obesidade	30
2.10	Tecido adiposo	31
2.11	Adipocitocinas	34
2.12	Adipocitocinas e metabolismo energético	35
2.12.1	Leptina	35
2.12.2	Adiponectina	37
2.12.3	Resistina	38
2.12.4	Proteína estimuladora de acilação (ASP)	38
2.12.5	Fator de necrose tumoral alfa (TNF-α)	39
2.12.6	Interleucina-6 (IL-6)	39
2.12.7	Grelina	40
2.13	As fontes lipídicas dos alimentos	41
2.14	Consumos de gorduras na atualidade	43
2.15	Importância fisiológica e nutricional dos lipídios	44
2.16	Resposta imunológica	46
2.17	Microbiota oral	50
2.18	Obesidade, imunidade e doença	52
2.19	Sedentarismo e excesso de peso	52
2.20	Exercício físico na prevenção da saúde	53
3	**MÉTODOS**	56
3.1	Desenho do estudo	56

3.2	Animais	56
3.3	Grupos experimentais	57
3.4	Evolução ponderal	57
3.5	Consumo alimentar e calórico	57
3.6	Dieta hipercalórica e hiperlipídica	58
3.7	Treinamento físico moderado	58
3.8	Microbiota oral	62
3.8.1	Coleta de material para cultura	62
3.8.2	Análise bacteriológica	62
3.9	Análise da série branca do sangue periférico	62
3.9.1	Obtenção das células do sistema imune	62
3.9.2	Leucograma	63
3.9.2.1	Contagem total de leucócitos	63
3.9.2.2	Contagem diferencial de leucócitos	64
3.9.3	Análise da atividade dos macrófagos	65
3.9.3.1	Obtenção dos macrófagos do lavado bronco alveolar (LBA)	65
3.9.3.2	Obtenção da cultura de macrófagos alveolares	66
3.9.3.3	Taxa de fagocitose por macrófagos alveolares	67
3.9.3.4	Produção de óxido nítrico por macrófagos alveolares	69
3.10	Parâmetros bioquímicos	69
3.10.1	Glicose	69
3.10.2	Colesterol total	69
3.10.3	Triglicerídeos	69
3.11	Obtenção da gordura visceral	69
3.11.1	Extração e metilação	70
3.12	Análise estatística	70
4	**RESULTADOS**	72
5	**CONSIDERAÇÕES FINAIS**	129
	REFERÊNCIAS	130
	ANEXOS	154

1 APRESENTAÇÃO

A prevalência mundial da obesidade está aumentando rapidamente, indicando que aspectos ambientais e de comportamento possuem importância na etiologia desta doença. Dentre as influências ambientais, destaca-se a alta ingestão lipídica e a hipoatividade física (CHEIK, 2005).

A obesidade é uma enfermidade crônica, que se caracteriza por um acúmulo excessivo de gordura corporal, a ponto de comprometer a saúde física e psicológica do indivíduo e reduzir a expectativa de vida, caracterizando-se como um grave problema de saúde pública (CARVALHO, 2002).

A obesidade aparece como uma das causas principais de várias doenças crônicas não transmissíveis e não infecciosas, incluindo problemas respiratórios, dermatológicos, distúrbios do aparelho locomotor e o favorecimento de enfermidades potencialmente letais como hipertensão, dislipidemias, doenças coronarianas e cerebrovasculares, certos tipos de câncer e diabetes mellitus tipo 2 (WHO, 1998; MUÑOZ; MAZURE; CULEBRAS, 2004).

As últimas estimativas da Organização Mundial de Saúde indicam que em 2005, no mundo todo, aproximadamente 1,6 bilhões de adultos com idade superior a 15 anos, estavam com sobrepeso e pelo menos 400 milhões estavam obesos. A projeção para o ano de 2015 é de que aproximadamente 2,3 bilhões de adultos estarão com sobrepeso e mais de 700 milhões serão obesos (WHO, 2005).

O ganho ponderal é preditor para o desenvolvimento da síndrome metabólica. A distribuição da gordura corporal é relevante, especificamente, a gordura visceral parece ser o elo entre o tecido adiposo e a resistência à insulina, característica desta síndrome. Diversos estudos revelam a estreita relação da adiposidade abdominal com a tolerância à glicose, hiperinsulinemia, hipertrigliceridemia e hipertensão arterial. Recentemente, acredita-se que a gordura visceral desempenha um papel central na fisiopatologia da síndrome metabólica. Assim a quantificação da gordura visceral se torna importante para identificar indivíduos com maior risco para o desenvolvimento da síndrome metabólica (FILHO, F et al, 2006).

Além destas alterações a obesidade leva também a uma disfunção imune (BOVILL et al, 1996; SWEETTMAN et al, 1997), a qual é acompanhada da taxa de infecções e aumento do risco de cicatrização retardada (KHAN e BOWMAN, 1999 e PI-SUNYER et al, 1999). Portanto, a obesidade caracteriza-se por gerar prejuízo ao estado normal do organismo, modificando completamente algumas das funções vitais como a cardíaca, endócrina e imune (CONWAY e RENÉ, 2004).

Os processos imunológicos envolvidos na defesa do organismo são afetados pelo estado nutricional. Assim, um desequilíbrio crônico entre ingestão e gasto energético conduz a situações de obesidade, que podem influenciar de forma inespecífica e específica nas respostas imunes humorais e celulares. Várias linhas de evidências têm apoiado um elo entre tecido adiposo e células imunológicas (MARTÍ, MARCOS e MARTINEZ, 2001). Atualmente, sabe-se que o tecido adiposo, além de ter função de armazenamento de reservas energéticas, tem importantes funções como órgão endócrino ao produzir diversos hormônios e moléculas de sinalização (MARTÍ, MARCOS e MARTINEZ, 2001).

Algumas das moléculas secretadas pelo tecido adiposo estão ativamente implicadas na regulação da função imune, como a Leptina (Lp) (AHIMA e FLIER, 2000), que além de seus efeitos centrais no controle da ingestão e nas reservas de energia, está envolvida na deficiência da resposta imune humoral e celular (OTERO et al, 2005). O peptídeo Adiponectina (Acrp 30) é também secretado pelo adipócito e participa na resposta imune atuando como protetor da inflamação (RUDIN e BARZILAI, 2005). As citocinas, interleucinas-6 (IL-6) e 8 (IL-8), e o Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF-α) são os componentes com participação direta no sistema imune sendo também secretadas pelo tecido adiposo (OTERO et al, 2005).

A resposta imunológica, frente às agressões agudas e crônicas na obesidade, está afetada devido às alterações das concentrações de mediadores inflamatórios, de populações linfocitárias, de células fagocitárias, de células apresentadoras de antígenos, etc. Portanto, a suscetibilidade de adquirir infecções, a incapacidade em combatê-las, a prevalência de desenvolver doenças auto-imunes e doenças crônicas inflamatórias, estão elevadas nos indivíduos obesos (ALVES, 2006).

No sistema imune há células cuja função primária é identificar, ingerir e destruir micro-organismos, destacando-se os macrófagos teciduais pertencentes à imunidade inata. Essas células fagocíticas estão estrategicamente colocadas em todos os locais onde micro-organismos podem penetrar no hospedeiro. Os macrófagos pertencem ao sistema de fagócitos mononucleares e constituem a segunda maior população celular do sistema imune. Após o contato com o agente agressor, agem liberando citocinas que iniciam e amplificam o processo inflamatório (MARTON e KISS, 2000).

A imunidade adaptativa acrescenta aos elementos da imunidade natural, os linfócitos B, responsáveis pela produção de anticorpos, relacionados à imunidade humoral e os linfócitos T, que medeiam à imunidade celular (VAL FAUSTO et al, 2004).

O timo é uma pequena glândula cuja função é produzir linfócitos T e que involui a partir da puberdade, quando as suas funções passam a ser desenvolvidas por outras estruturas. Atinge o seu maior peso relativo ao final da vida fetal, porém o peso absoluto continua a aumentar na época da puberdade. Na puberdade, o timo começa a sofrer uma involução que progride rapidamente, até que no adulto, o órgão seja, em grande parte, substituído por células adiposas. O ritmo de crescimento tímico na criança e de involução no adulto é extremamente variável. Os principais constituintes celulares do timo são os linfócitos T (Tinócitos), as células reticulares e um pequeno número de macrófagos (VAL FAUSTO et al, 2004).

Outro constituinte da resposta inflamatória é a proteína C-reativa (PCR). Surge frequentemente no soro durante a evolução de numerosos processos inflamatórios, especialmente nos de caráter agudo. Mais de 20 grandes estudos prospectivos têm demonstrado que a resposta inflamatória à proteína C- reativa (PCR) é um preditor do risco de hipertensão e diabetes (RIDKER, PM, 2007). Vários estudos indicam que os níveis elevados de PCR entre os aparentemente homens e mulheres saudáveis são um forte indicador de futuros problemas cardiovasculares (RIDKER, PM et al, 2007; DANESH J et al, 2000; MENDALL MA et al, 2000).

Em longo prazo, o valor preditivo de níveis elevados de PCR tem sido encontrado em pacientes com doença arterial coronariana e angina (THOMPSON et al, 1995; HAVERKATE et al, 1997). Há uma crescente evidência sugerindo que a obesidade é uma

doença inflamatória e está a tornar-se um motivo de preocupação em pacientes criticamente doentes. Um aumento na morbidade por infecções graves em pacientes obesos comparados com as pessoas magras é a causa de crescente preocupação (RIDKER, PM, 2007).

A grande similaridade e homologia entre os genomas de roedores e seres humanos tornam os modelos animais uma grande ferramenta para estudar as condições que afetam os seres humanos, que podem ser simuladas em ratos. A administração de dieta hipercalórica é o modelo mais simples para indução de obesidade e possivelmente um dos que mais se assemelha à realidade da obesidade em seres humanos (DIEMEN; TRINDADE; TRINDADE, 2006).

As consequências já conhecidas da obesidade sobre os diversos sistemas do organismo induzem a hipótese de que a administração de dieta hipercalórica e hiperlipídica a partir do desmame resulta para o animal consequências negativas sobre as defesas orgânicas, promovendo alterações nos parâmetros imunológicos e nas taxas bioquímicas. Acredita-se que o consumo contínuo desta dieta leva ao aumento do consumo alimentar, da ingestão calórica, do peso corporal, da gordura visceral e dos níveis circulantes de glicose, colesterol e triglicerídeos. Com base nas alterações destes parâmetros, espera-se que o recrutamento e a função de células imunes estejam comprometidos, e ainda, que a microbiota normal seja afetada (DIEMEN; TRINDADE; TRINDADE, 2006).

O treinamento físico moderado contribui para a manutenção do padrão de normalidade do peso corporal, permitindo adaptações progressivas na contagem total e diferencial de leucócitos do sangue periférico, promovendo melhoria na função de macrófagos. Os animais que consumiram dieta hipercalórica e hiperlipídica, e não foram submetidos ao treinamento físico moderado, têm dificuldade de recuperar o padrão de normalidade do peso corporal, de manter a concentração de leucócitos do sangue periférico dentro de valores de normalidade, promovendo melhorias na função de macrófagos (ESTADELLA et al, 2004).

Este estudo pretende consolidar as hipóteses anteriormente propostas, além de servir como base para relacionar diversos fatores ainda discordantes na literatura a

respeito do uso de dieta hipercalórica e hiperlipídica. Assim, o objetivo geral deste estudo foi estudar em ratos adultos submetidos à dieta hipercalórica e hiperlipídica no período após o desmame, o efeito do treinamento físico moderado sobre parâmetros metabólicos e imunológicos imunológicos.

Para obtenção do objetivo geral, os seguintes objetivos específicos foram determinados: comparar o peso corporal e a gordura visceral de animais obesos e eutróficos; identificar o consumo alimentar e calórico dos animais; avaliar o efeito da dieta hipercalórica e hiperlipídica sobre concentrações de glicose, colesterol total e triglicerídeos do sangue; detectar alterações na série branca do sangue periférico; examinar a atividade fagocítica de macrófagos alveolares e a produção de óxido nítrico; estudar uma possível mudança na microbiota da cavidade oral; verificar os efeitos do treinamento físico moderado em relação ao peso corporal, à microbiota oral e aos parâmetros imunológicos e bioquímicos; estabelecer possíveis associações entre as variáveis estudadas.

Todos os resultados da presente pesquisa foram relatados em três artigos científicos, os quais foram submetidos às seguintes revistas científicas: Revista Veterinária, Revista de Nutrição – PUC- Campinas e Immunology. Além da confecção dos artigos científicos, diversos trabalhos foram apresentados em congressos científicos, dos quais dois receberam premiação de primeiro e segundo melhor trabalho do congresso (Em anexo).

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 A etiologia da obesidade

A prevalência da obesidade é crescente tanto nos países desenvolvidos como naqueles em desenvolvimento (SEIDELL, 1997). A obesidade é uma doença multifatorial crônica definida como um acúmulo excessivo de tecido adiposo num nível que compromete a saúde dos indivíduos e que tem em sua origem fatores genéticos, psicossociais, nutricionais, metabólicos e endócrinos (WHO, 2005).

O recente relatório da Organização Mundial de Saúde (OMS) enfatizou uma tendência mundial do aumento da prevalência de sobrepeso e obesidade, em proporções endêmicas, nos diversos países (WHO, 2005). É provável que a redução acentuada de exercícios físicos diários, associada à dieta abundante, rica em gorduras e açúcares simples, sejam elementos importantes neste cenário (BRAY, 1998).

As últimas estimativas da OMS indicam que em 2005, no mundo todo, aproximadamente 1,6 bilhões de adultos estavam com sobrepeso e 400 milhões estavam obesos. A projeção para o ano de 2015 é de que aproximadamente 2,3 bilhões de adultos estarão com sobrepeso e mais de 700 milhões serão obesos (WHO, 2005).

O surgimento e a manutenção da obesidade contam com a contribuição de fatores que atuam na regulação da ingestão de alimentos através de um complexo sistemas de sinais centrais e periféricos que interagem para modular a ingestão de nutrientes de forma individual e no armazenamento de energia (VALASSI et al, 2008). Assim, a principal causa da obesidade é o desequilíbrio entre a quantidade de energia consumida e o gasto desta levando a um acúmulo no organismo (BOUCHARD, 2000).

Esse armazenamento tem como consequencia o excesso de massa gordurosa que se traduz não apenas em um depósito de energia, mas também em um órgão endócrino Essa gordura encontra-se dispersa por todo o organismo e sua atividade secretória é regulada por mecanismos humorais e hormonais pouco esclarecidos (GARRUTI et al, 2008).

Operacionalmente, a obesidade é diagnosticada a partir de parâmetros estipulados pela OMS (WHO, 2005), o Índice de Massa Corporal (IMC) obtido pelo intermédio do

cálculo da relação entre peso corpóreo em quilogramas dividido pela altura em metros quadrados dos indivíduos. O Consenso Latino Americano em Obesidade (1998) define obesidade como IMC maior ou igual a 30 Kg/m². Dentro deste contexto, a obesidade é classificada, de acordo com os valores do IMC em: Sobrepeso (≥25 e < 30), Obesidade grau I (≥30 e < 35), Obesidade grau II (≥35 e < 40) e Obesidade grau III (>40). A OMS acrescenta ao IMC a Circunferência Normal da Cintura, estabelecendo relação entre estas variáveis. (Tabela1).

Tabela 1. Classificação de sobrepeso/obesidade em adultos de acordo com o IMC e a Circunferência Normal da Cintura (WHO, 2005).

		Risco de Doença em relação ao Peso Normal e à Circunferência Normal da Cintura	
CLASSIFICAÇÃO	**IMC (Kg/m^2)**	**Homens: ≤ 102 cm** **Mulheres: ≤ 88 cm**	**Homens: > 102 cm** **Mulheres: > 88 cm**
Baixo Peso	<18,5	Nenhum Risco	Nenhum Risco
Peso Normal	18,5-24,9	Nenhum Risco	Nenhum Risco
Sobrepeso	25,0-29,9	Aumentado	Alto
Obeso Classe I	30,0-34,9	Alto	Muito Alto
Obeso Classe II	35,0-39,9	Muito Alto	Muito Alto
Obeso Classe III	≥40	Extremamente Alto	Extremamente Alto

A obesidade é um estado complexo e multifuncional, que tem acometido na contemporaneidade parcela importante da população mundial. Muitos fatores contribuem para o seu desenvolvimento, a qual afeta todas as idades e grupos sócio-econômicos. Considerando-se que o patrimônio genético da espécie humana não pode ter sofrido mudanças importantes neste intervalo de poucas décadas, certamente os fatores ambientais devem explicar esta epidemia (POPKIN, 1998; PHILIP et al, 2001).

Estima-se que os fatores genéticos possam responder por 24 a 40% da variância no IMC, por determinarem diferenças em fatores como taxa de metabolismo basal, resposta à superalimentação e outros (BOUCHARD, 1994; PRINCE, 2002). Acredita-se que as mudanças de comportamento alimentar e os hábitos de vida sedentários atuando sobre genes de suscetibilidade sejam o determinante principal do crescimento da obesidade no mundo. É provável que a obesidade surja como a resultante de fatores poligênicos complexos e um ambiente obesogênico (SNYDER et al, 2004).

A obesidade assume relevância para o campo da saúde na medida em que está associada a um grande número de doenças, incluindo as patologias cardiovasculares e cerebrovasculares; os distúrbios metabólicos (diabetes mellitus, dislipidemias); diversos tipos de câncer, patologias do aparelho digestório, entre outras (FUJIMOTO *et al*, 1999; HALPERN et al, 2004). Somam-se aos danos fisiológicos, impactos psicossociais relacionados à questão do estigma e da discriminação a indivíduos sob esta condição (SOBAL, 1991; FERREIRA, 2002). A morbi-mortalidade e os danos sociais relacionados à obesidade têm dessa forma gerado significativos impactos nas sociedades modernas (FERREIRA, 2002).

No Brasil, a obesidade é um fenômeno mais presente no contexto urbano, o que pode ser observado em todas as regiões brasileiras, uma vez que a distribuição do excesso de peso é mais elevada na área urbana do que na área rural do país. Na área urbana, o excesso de peso é significativo para o grupo feminino (12%) em detrimento do masculino (6%) (COUTINHO et al, 2008; FERREIRA, 2002).

2.2 Obesidade monogênica

Diversas mutações monogênicas já foram associadas com a obesidade grave e a hiperfagia, com um grande número de novas correlações genótipo-fenótipo sendo identificadas a cada ano. Mutações envolvendo a via de sinalização da melanocortina já descritas incluem mutações no gene da leptina (FAROOQI et al, 1998), do receptor de leptina (CLEMENT et al, 1998), da proopiomelanocortina (POMC) (KRUDE et al, 1998) e do receptor da melanocortina (MC4R) (YEO et al, 1998; VAISSE et al, 1998).

Sabe-se, atualmente, que o adipócito, além do seu papel no armazenamento de gordura, desempenha um importante papel endócrino, produzindo hormônios que influenciam os centros de regulação de energia no hipotálamo (YEO et al, 2000). A leptina, secretada pelo adipócito, atua em nível hipotalâmico estimulando os neurônios produtores de POMC, que por sua vez é clivada produzindo o (alfa) hormônio estimulador do melanócito, agonista potente do MC4R. Quando o MC4R está ligado ao agonista, as vias neurais anorexígenas são estimuladas, diminuindo o apetite e a ingesta alimentar. Já as vias orexígenas sofrem "*down-regulation*" pela leptina, que inibe a produção da proteína relacionada com o agouti (*agouti-related protein*), que é antagonista do MC4R.

Quando ocorrem mutações nos genes que codificam a leptina e o receptor de leptina, poderão ser identificadas deficiência parcial ou total de leptina e resistência à insulina causada por defeito no receptor. Que influenciarão na regulação do peso corporal (CAMPFIELD et al, 1995; CHU et al, 2000). Estas anormalidades monogênicas associam-se com o hipogonadismo hipogonadotrófico (STROBEL et al, 1998), hiperfagia e obesidade grave de início na infância (MONTAGUE et al, 1997; FAROOQI et al, 2001). Pacientes com deficiência congênita de leptina, o tratamento com leptina recombinante pode reverter o quadro (FAROOQI et al, 1999).

2.3 Proopiomelanocortina (POMC) e sinalização de melanocortina

As mutações com perda da função no gene da POMC resultam, em hiperfagia, obesidade grave, deficiência de ACTH com insuficiência adrenal, hipopigmentação cutâneo e cabelo ruivo (YASWEN et al, 1999). As mutações do receptor MC4R são as causas monogênicas mais comuns de obesidade chegando a acometer 6% dos pacientes com obesidade grave e início na infância (FAROOQI et al, 2003; BRANSON et al, 2003), Além da obesidade de manifestação precoce e hiperfagia, a mutação do receptor MC4 também favorece ao aumento da massa magra, da densidade mineral óssea, crescimento acelerado e hiperinsulinemia, sem qualquer evidência de hipogonadismo (FAROOQI et al, 2003).

2.4 Obesidade poligênica

É considerada a influência genética mais comumente manifestada para a obesidade, conferindo a certos indivíduos uma susceptibilidade resultante de fatores genéticos que podem estar inter-relacionados de forma bem complexa, o que torna difícil a individualização destes genes em estudos populacionais. Em estudos animais já foram demonstrados centenas de alterações gênicas (SCHADT et al, 2003).

Inúmeros marcadores genéticos já foram relacionados com a obesidade e suas consequências metabólicas, mas as interações específicas entre genótipo e fenótipo nas formas poligênicas de obesidade não estão completamente elucidadas (CLEMENT e FERRE, 2003).

2.5 Fatores ambientais e obesidade

Na tentativa de buscar uma explicação para a epidemia global de obesidade, certamente os esforços devem concentrar-se na identificação de fatores ambientais envolvidos. (GORTMAKER et al, 1993; HILL e PETERS, 1998; EPSTEIN et al, 2000). Com a tendência de piora progressiva de todos estes fatores ambientais, o prognóstico atualmente mais aceito é de agravamento progressivo das altas taxas de prevalência da obesidade na maioria das populações do planeta (FOREYT e GOODRICK, 1995).

O meio ambiente predominante em todos os países ocidentais ou com hábitos de vida ocidentalizados caracteriza-se por oferta ilimitada de alimentos baratos, palatáveis, práticos e de alta concentração energética. Alia-se a isso um sedentarismo crescente, com a prática de atividades físicas cada vez mais dificultadas, principalmente nas grandes cidades. Em relação ao papel permissivo que os genes desempenham no desenvolvimento da obesidade poligênica, atualmente, aceita-se que os fatores ambientais interagem para levar à obesidade (HILL e PETERS, 1998).

2.6 Hábitos alimentares

O estilo de vida moderno tem influenciado na mudança dos hábitos alimentares, tanto no consumo quanto na escolha dos alimentos, interferindo no estilo de vida, na dieta e no estado nutricional (RODRIGUEZ et al, 2007).

Nas sociedades de hábitos alimentares ocidentais, o consumo calórico tem derivado predominantemente de alimentos processados, de alta densidade energética, com elevados teores de lipídios e de carboidratos. Nos Estados Unidos estima-se que nos últimos 100 anos o consumo de gorduras tenha aumentado em 67% e o de açúcar em 64%. Já o consumo de verduras e legumes diminuiu 26% e o de fibras, 18%. Na maioria dos casos, esse aumento do consumo calórico parece dever-se ao crescimento progressivo das porções de alimentos ao longo das últimas décadas. (YOUNG e NESTLÉ, 2002).

Nos países em desenvolvimento, também se observa uma tendência à deterioração dos hábitos alimentares. Ao estudar padrões de consumo da população brasileira, Schieri et al (2003) relataram uma redução do consumo de arroz com feijão de 30%, enquanto o consumo de refrigerante aumentou em 268%, no Rio de Janeiro. Entretanto, apesar de existirem intervenções comunitárias bem sucedidas no sentido de promover hábitos alimentares mais saudáveis, principalmente na infância sua implementação esbarra na forte influência que a propaganda de alimentos exerce sobre as preferências alimentares das crianças (BIRCH e FISHER, 1998).

2.7 Nutrição materna e obesidade

Já está bem estabelecida a relação entre nutrição materna e programação da obesidade (JUNIEN E NATHANIELSZ, 2007). Estudo epidemiológico em humanos tem demonstrado que privação alimentar no período pré-natal seguido por um rápido crescimento tem resultado em obesidade. (HALES E BARKER, 2001). Estudos com animais têm mostrado a mesma tendência (PROULX et al, 2002). A predisposição à obesidade tem nexo com qual dieta alimentar foi fornecida na idade precoce e a disponibilidade de alimentos na idade adulta, integrando Desnutrição - *catch-up* - programação da obesidade (HALES E BARKER, 2001).

Existem profundos efeitos do cuidado materno sobre as diferenças individuais. Em ratos adultos, respostas ao stress são programadas nos primeiros anos de vida através dos cuidados maternos. (PROULX et al, 2002). Nos mamíferos, os efeitos "*programming*" às respostas emocionais, cognitivas e do sistema endócrino, levam ao aumento da sensibilidade à adversidade (YURA et al, 2005). Em ambientes altamente adversos, tais efeitos podem ser considerados adaptativos, aumentando as chances de sobrevivência da

prole, no entanto, eles têm um custo, sob o aumento do risco de diversos tipos de doença na idade adulta (ARENZ E KRIES, 2005).

A nutrição provavelmente exerce efeitos sobre o desenvolvimento embrionário, e esses efeitos concernem todos os tecidos. Assim obesidade materna durante a gravidez pode ser causa de *imprinting* metabólico nos descendentes, perpetuando obesidade através das gerações (ARENZ E KRIES, 2005).

2.8 Obesidade central ou visceral

Atualmente, sabe-se que a localização abdominal da gordura (obesidade central ou visceral) está mais associada a distúrbios metabólicos e risco cardiovascular. Medidas regionais de obesidade, entre a circunferência da cintura ou a razão entre as circunferências da cintura e do quadril (RCQ), são capazes de fornecer estimativas da gordura abdominal, que por sua vez, está correlacionada à quantidade de tecido adiposo visceral (EGGER, 1992; KISSEBAH, 1997).

Dados epidemiológicos mostram ser a RCQ, fator preditivo independente para uma série de distúrbios metabólicos, havendo indicação de que a avaliação da obesidade tomando-se como base, a relação cintura/quadril, faça parte também da rotina clínica e combinada ao índice de massa corporal (IMC), possa potencializar a capacidade preditiva de complicações cardiovasculares (ZAVARONI et al, 1989).

Considera-se que a obesidade promove um ônus à saúde, pois, alguns pacientes apresentam certas complicações tais como: hipertensão, diabetes, dislipidemia, além de doenças cerebrais e cardiovasculares (DIXON et al, 2002). A Associação Americana de Cardiologia considera a obesidade como um dos maiores e principais fatores de risco para doenças coronárias, seguidos do fumo, colesterol elevado, hipertensão arterial e vida sedentária (TARGHER et al, 2000).

A obesidade está associada a um número de alterações deletérias do metabolismo lipídico, incluindo níveis elevados de colesterol total, LDL-C, triglicerídeos e reduções do HDL-C em torno de 50% (HUBERT et al, 1983). As dislipidemias secundárias surgem em decorrência de patologias como: hipotiroidismo, diabetes mellitus tipo 2, síndrome nefrótica, insuficiência renal crônica, obesidade, alcoolismo, icterícia obstrutiva,

utilização de altas doses de diuréticos, betabloqueadores, corticosteróides e anabolizantes (3º Consenso Brasileiro sobre Dislipidemias, 2001).

2.9 Dieta hiperlipídica como modelo de indução da obesidade

A obesidade pode ser induzida em animais por alterações neuroendócrinas, dietéticas ou genéticas. Os modelos mais utilizados para indução de obesidade em ratos são: a lesão do núcleo hipotalâmico ventromedial através da administração de glutamato monossódico ou lesão elétrica direta, ooforectomia, alimentação com dietas hipercalóricas e manipulação genética para a obesidade (DIEMEN; TRINDADE; TRINDADE, 2006).

Segundo esses autores, a administração de dieta hipercalórica é o modelo que mais condiz com a realidade da obesidade em seres humanos. Há vários tipos de dietas para induzir obesidade que se revelam eficazes. Algumas dietas hipercalóricas são realizadas acrescentando hidratos de carbono e outras, aumentando a porcentagem de gorduras, a maioria delas varia de 3,7 kcal/g e 5,4 kcal/g. Todas são altamente saborosas e induzem obesidade (DIEMEN; TRINDADE; TRINDADE, 2006).

Em animais, os estudos apontam que a alimentação hiperlipídica é um componente importante na etiologia da obesidade, já que dietas hiperlipídicas comprovadamente levaram ao excesso de gordura corporal (WILLET, 1998; KATAN, 1999).

A dieta hiperlipídica exerce diferentes efeitos sobre o metabolismo geral (HILL et al, 1992; GHIBAUDI et al, 2002), contribuindo para um quadro patogenético que se manifesta principalmente no metabolismo de lipídios (ZARAGOZA-HERMANS, 1974; AXEN, DIKEAKOS, SCALAFANI, 2003).

Nos últimos anos diversos estudos têm utilizado dieta hipercalórica com aumento de lipídios como modelo para induzir obesidade. O consumo da dieta hiperlipídica na maioria das pesquisas varia entre 8 a 15 semanas (BERNARDES et al, 2004,; ESTADELLA et al, 2004; DUARTE et al, 2006; EGUCHI et al, 2008; FRANCO, CAMPOS, DEMONTE, 2009; PAULI et al, 2009).

Tais estudos contemplam uma diversificada gama de análises, desde metabolismo dos lipídios e carboidratos, exercício físico, síndrome metabólica e comportamento hormonal. Apesar das várias pesquisas utilizando esse tipo de dieta, a relação da obesidade com alterações do sistema imunológico, sobretudo quando se estuda o comportamento após infecção grave, é tema inovador na pesquisa científica (BERNARDES et al, 2004,; ESTADELLA et al, 2004; DUARTE et al, 2006).

2.10 Tecido adiposo

Durante muitos anos o tecido adiposo foi considerado o mais importante órgão de armazenamento de energia do organismo humano (HAVEL, 2004). O excesso de energia consumido é convertido em moléculas de triacilgliceróis, sob ação do hormônio insulina, enquanto que durante a restrição energética, os estoques de energia são rapidamente mobilizados, sob influência das catecolaminas e outros hormônios lipolíticos (HAUNER, 2004).

Nos últimos anos, o tecido adiposo tem sido identificado como um órgão endócrino, pois secreta vários hormônios conhecidos como adipocinas (TSCHOP e MORRISON, 2001). No entanto, outras propriedades distintas foram acrescidas das quais podem ser citadas a identificação da leptina, hormônio secretado pelos adipócitos, que participa ativamente no controle do dispêndio energético bem como do apetite. (HAUNER, 2004).

Foram verificadas outras funções do tecido adiposo no organismo humano, como o papel de órgão multifuncional, produtor e secretor de inúmeros peptídeos e proteínas bioativas, denominadas adipocitocinas. Esta importante função endócrina mantém o tecido adiposo em intensa comunicação com os demais órgãos e sistemas orgânicos (HAUNER, 2004). De acordo com Dusserre, Moulin e Vidal, (2000), o tecido adiposo, enquanto órgão secretor apresenta distintas peculiaridades, entre elas:

1. Constitui tecido de ampla e variada constituição orgânica, mas nem sempre apresenta conexão entre si. Os mecanismos envolvidos com a atividade secretora dos adipócitos permanecem sob investigação, necessitando de melhores esclarecimentos acerca dos processos humoral e/ou neural;

2. Adipócitos maduros, pré-adipócitos, fibroblastos e macrófagos, representam os diferentes tipos de células que constituem o tecido adiposo e participam da sua função endócrina;

3. A capacidade metabólica do tecido adiposo varia em função da sua localização, subcutânea ou visceral, podendo contribuir de forma mais ou menos intensa para a secreção de adipocitocinas específicas.

Existem dois tipos de tecido adiposo com funções fisiológicas diferentes. Desse modo são classificados como tecido adiposo branco, aquele localizado na região subcutânea e abdominal (ou visceral); e tecido adiposo marrom que está bem distribuído no organismo, além disso, em humanos, o tecido adiposo marrom apresenta-se em maior quantidade no início da vida e é reduzido na fase adulta (LAZAR, 2008)

O tecido adiposo marrom tem função importante no metabolismo oxidativo, através da oxidação de ácidos graxos para geração de calor, e sua coloração amarronzada se dá pelo grande número de mitocôndrias, ou seja, o citocromo contido dentro desta organela (LAZAR, 2008). Já o tecido adiposo branco, atualmente, é reconhecido por possuir diversas funções tais como barreira física, isolamento térmico, armazenamento de energia e secreção de substâncias bioativas com parácrina e endócrina (FANTUZZI, 2005).

O tecido adiposo branco tem se tornado atraente para o estudo da obesidade por ser um grande armazenador de energia na forma de triglicerídeos e por apresentar um grande número de células secretórias, o que o torna um dos maiores órgãos endócrinos do nosso corpo (TRAYHURN, 2007).

É possível observar também o progresso significativo no entendimento das bases genéticas e moleculares na regulação da massa corporal (SCHWARTZ et. al., 2003). Estima-se que os fatores genéticos são responsáveis por cerca de 25 a 70% das variações no peso corporal. A relação entre a ingestão e o gasto calórico (balanço energético) é um processo dinâmico e constante, visando, entre outras funções, estabilizar os estoques de gordura corporal (BOUCHARD e PERUSSE, 1993).

A homeostase energética requer um controle primário do sistema nervoso central (SNC) em resposta às mudanças nos estoques de energia periféricos. Tais alterações

devem ocorrer nos dois lados da equação do balanço energético (ingestão e gasto) e devem persistir até a chegada ao ponto de equilíbrio (XU et al., 2005).

É provável que a necessidade de sobrevivência e reprodução durante períodos de restrição energética tornou o sistema regulatório mais efetivo para defender o organismo contra a redução da gordura corporal, quando comparado com a proteção contra o aumento de massa corporal, que parece ter sido menos desenvolvido durante a evolução humana, visto que não havia oferta de alimentos (AHIMA et al, 1999).

Durante períodos de déficit energético e restrição de alimento, a fome é aumentada enquanto há redução na taxa metabólica, combinação esta que promove uma rápida e eficiente recuperação da massa perdida quando o acesso ao alimento se torna normal. Neste sentido, o controle neuro-humoral da homeostase energética é mais tolerante ao aumento de massa corporal do que a redução, sendo este comportamento um dos maiores obstáculos para os tratamentos de longa duração em indivíduos obesos (SCHWARTZ et al, 2003).

De uma perspectiva evolucionária, parece que a necessidade de sobrevivência e reprodução durante períodos de restrição energética tornou o sistema regulatório mais efetivo para defender o organismo contra a redução da gordura corporal, quando comparado com a proteção contra o aumento de massa corporal, que parece ter sido menos desenvolvido durante a evolução humana, visto que o excesso na oferta de alimentos não era tão comum (AHIMA et al, 1999).

Durante períodos de déficit energético e restrição de alimento, a fome é aumentada enquanto há redução na taxa metabólica, combinação esta que promove uma rápida e eficiente recuperação da massa perdida quando o acesso ao alimento se torna normal. Neste sentido, o controle neuro-humoral da homeostase energética é mais tolerante ao aumento de massa corporal do que da redução, sendo este comportamento um dos maiores obstáculos para os tratamentos de longa duração em indivíduos obesos (SCHWARTZ et al, 2003).

Nos depósitos de gordura também é possível encontrar diversos tipos de células como macrófagos, pré-adipócitos e adipócitos (TRAYHURN e WOOD, 2005). Produtos

do tecido adiposo como adipocinas desempenham um importante papel no equilíbrio energético, na suscetibilidade à insulina e doença vascular e na resposta imunológica (PRINS, 2002).

2.11 Adipocitocinas

O tecido adiposo, também, produz e secreta muitas proteínas que atuam como hormônios, as adipocitocinas, que desempenham importante papel em processos inflamatórios e processos ateroscleróticos (VENDRELL et. al, 2004). Entender a ação dessas substâncias na regulação do balanço energético é essencial para sucesso do tratamento de indivíduos obesos, visto que o objetivo dessas intervenções não deve ser somente a redução da massa corporal e sim o restabelecimento da saúde metabólica do paciente (GUIMARÃES, SARDINHA, MIZURINI, DO CARMO, 2007).

As adipocitocinas incluem citocinas clássicas, fatores de crescimento e proteínas do sistema complemento; incluem ainda, proteínas envolvidas na regulação da pressão arterial, hemostasia vascular, metabolismo dos lipídios, da glicose e angiogênese (TRAYHURN, 2007). As adipocitocinas influenciam vários processos fisiológicos, tais como: o controle da ingestão alimentar, a homeostase energética, a sensibilidade à insulina, a angiogênese, a proteção vascular, a regulação da pressão e a coagulação sanguínea (HAVEL, 2004).

Alterações na secreção de adipocitocinas, consequentes à hipertrofia e/ou hiperplasia dos adipócitos, poderiam constituir situação relacionada à gênese do processo fisiopatológico da obesidade e suas complicações (HAVEL, 2004). Principais ações de algumas adipocitocinas relacionadas com a homeostase energética: leptina, adiponectina, resistina, proteína estimuladora de acilação (ASP), fator de necrose tumoral (TNF-α), interleucina-6 (IL-6) e o sistema PAI-1 e angiotensinogênio. (GUIMARÃES, 2007).

A adiponectina é o mais abundante fator específico do tecido adiposo e esta envolvida na regulação do balanço energético, desenvolvendo um papel anorexígeno, esta adipocitocina também aumenta a sensibilidade à insulina e inibe a inflamação vascular. Pessoas obesas apresentam baixa concentração sérica desta substância, que se eleva após a redução de massa corporal (LYON et al, 2003). .

2.12 Adipocitocinas e metabolismo energético

2.12.1 Leptina

Em 1994, foi descoberta a Leptina, proteína produzida pelo tecido adiposo, a qual modifica as funções das células nervosas cerebrais. É uma proteína de 167 aminoácidos, caracteriza-se como um hormônio codificado pelo gene que é expresso principalmente nos adipócitos, tanto de seres humanos quanto de roedores e que atua como um fator de sinalização entre o tecido adiposo e o sistema nervoso central, regulando a ingestão alimentar, o gasto energético e conseqüentemente, a massa corporal (HALAAS et al, 1995)

Os teores circulantes são proporcionais à massa adiposa, apresentando-se elevados em animais obesos. (HALAAS et al, 1995). A identificação da leptina possui um marco no estudo do controle fisiológico do balanço energético e da fisiopatologia da obesidade (HALAAS et al, 1995). Diversas ações vêm sendo atribuídas a leptina, entre elas, envolvimento na função reprodutiva (CIOFFI, J.A. et al, 1996), hematopoiese, angiogênese (SIERRA-HONIGMANN M.R., et al(1998), resposta imune (LORD G.M. et al, 1998) e formação óssea (DUCY, P. et al, 2000).

O hipotálamo, região do cérebro que está associada ao controle central do balanço energético constitui o maior alvo dessa adipocitocina. Foi previamente verificado que a administração deste hormônio estimula a redução da ingestão alimentar e concomitantemente aumenta o gasto energético em modelos experimentais de obesidade (ZHANG *et al.* 1994; CAMPFIELD *et al.* 1995).

A leptina interage com diferentes sistemas neuroendócrinos centrais envolvidos no controle da ingestão de alimentos, incluindo, por exemplo, o neuropeptídeo Y(NPY), sintetizado no núcleo arqueado do hipotálamo, que constitui um potente estimulador da ingestão de alimentos (CAMPFIELD, L.A. et al, 1995).

O receptor da leptina se expressa em vários tecidos e também em várias populações de neurônios envolvidos com neuropeptídeos específicos que regulam o apetite, no entanto seus principais efeitos sobre a massa corpórea manifestam-se por ação hipotalâmica (BJORKMAN, 2004).

Tanto deficiência como resistência à leptina causam superexpressao de NPY hipotalâmico, implicado na hiperfagia da obesidade (SCHWARTZ, M.W., 1996), e ainda, em roedores obesos, também acompanham severa resistência à insulina, uma vez que a insulina é outro sistema regulador da homeostase energética (MUZUMDAR, R. et al, 2003).

A obesidade em indivíduos adultos tem sido associada com elevada concentração de leptina circulante devido a sua produção quase exclusiva no tecido adiposo, correlacionando-se com a massa adiposa e a tendência ao ganho de peso em populações não obesas com altos níveis basais de leptina podendo sugerir uma resistência à leptina nesses indivíduos (LISSNER et al, 1999).

Os altos níveis plasmáticos de leptina decorrem de um desacoplamento de leptina e de seus receptores no hipotálamo. A interrupção das vias de transdução de sinal requeridas para a supressão do apetite, leva ao aumento da leptina circulante (AHIMA e FLIER, 2000). A ligação da leptina aos receptores hipotalâmicos determina a liberação de neuropeptídios anorexígenos e a redução do neuropeptídeo Y (JEQUIER, 2002).

Muitos estudos têm demonstrado que a leptina tem ação direta e inibitória sobre a secreção de insulina. Essa inibição pode ocorrer pela ativação dos canais de potássio dependentes de ATP ou da via de interação com a sinalização da proteína quinase AMP ativada, a qual tem papel importante no controle do consumo alimentar (SEUFERT, J. et al, 1999). Evidências adicionais sugerem que a leptina promove a oxidação de triacilgliceróis do tecido adiposo e reduz o acúmulo de gordura, inibindo a lipogênese e estimulando a lipólise (AHREN, B.; HAVEL, P.J. et al, 1999).

A hipertrofia dos adipócitos está em direta associação com a secreção desse hormônio, que reduz a ingestão alimentar via múltiplos mecanismos e aumenta o gasto energético, o que tende a fazer a massa adiposa retornar ao seu "*set point*" (WAJCHENBERG, 2000). No entanto, na maioria das pessoas obesas, o "*set point*" é diferente, talvez devido à resistência à ação da leptina, ou seja, a maioria das pessoas obesas apresentam excesso de leptina e não falta, sugerindo que o mecanismo seja mais uma resistência à ação deste hormônio do que de sua falta, provavelmente devido à dificuldade em atravessar a barreira hemato-encefálica (WAJCHENBERG, 2000).

A leptina regula uma ampla variedade de processos comportamentais, tais como: pressão sanguínea, massa óssea, adipócitos, células musculares e função imune, assim como, a regulação intercelular múltipla, sinalizando mecanismos que podem estar associados com resistência à insulina e obesidade (BJORKMAN, 2004; OZATA et al, 1999). A concentração circulante de leptina, assim como a expressão do RNAm nos adipócitos, pode ser influenciada pela ingestão alimentar, por variações da massa corporal, pela insulina, pelos corticosteróides e pela atividade física (MILLER et al , 2004).

Já está bem estabelecido que o exercício físico, a depender de sua magnitude, é um importante fator para reduzir a obesidade e a adiposidade, e tem relação direta com a concentração circulante de leptina. A prática regular de exercício físico promove alterações nesse hormônio, as quais parecem responder diferentemente quanto ao tempo de treinamento (KRAEMAR, 2005).

Em treinamentos de curta duração (<12 semanas), não houve variações de leptina, apesar da redução na gordura corporal (HOUMARD, 2000). Por outro lado, vários estudos verificaram reduções significativas na concentração circulante de leptina em treinamentos de longa duração (>12 semanas), reforçando a importância de um estilo de vida fisicamente ativo em indivíduos obesos (HICKEY, 1997; GUTIN, 1999; OKASAKI, 1999).

2.12.2 Adiponectina

É uma proteína expressa exclusivamente pelo tecido adiposo em meados de 1990 que demonstra relevantes efeitos sobre o metabolismo (OUCHI, N. et al, 1999). Foi sugerido que em indivíduos com concentrações circulantes elevadas de adiponectina estão menos sujeitos ao desenvolvimento de diabetes tipo II, quando comparados àqueles com concentrações reduzidas (SPRANGER, J. et al, 2003). Efeitos anti-aterogênicos também têm sido atribuídos a essa adipocitocina (GOLDSTEIN, B.J.; SCALIA, R. et al, 2004).

A adiponectina circulante parece proteger o endotélio vascular contra a maioria dos processos envolvidos na etiopatogenia da aterosclerose (FUNAHASHI T, MATSUZAWA Y, KIHARA S., 2004). Em indivíduos que apresentaram uma redução

nos teores circulantes da adipocitocina, foram observadas várias disfunções metabólicas associadas, a maioria manifestou diabetes, hipertensão, dislipidemia e aterosclerose (FUNAHASHI T, MATSUZAWA Y, KIHARA S., 2004), sugerindo a existência de associação entre hipoadiponectinemia e o estabelecimento da Síndrome Metabólica. (FUNAHASHI T, MATSUZAWA Y, KIHARA S., 2004). Contrariamente, TNF-α e IL-6 são potentes inibidores da expressão e secreção de adiponectina (YAMAUCHI, T. et al, 2002).

2.12.3 Resistina

É uma adipocitocina recentemente identificada, pertencente a uma família de proteínas ricas em cisteína encontradas em regiões de inflamação. A resistina é expressa especificamente no tecido adiposo branco e sua secreção está fortemente relacionada à resistência à insulina, verificando-se aumento nas concentrações de resistina em animais obesos e diabéticos (STEPPAN, C.M. et al, 2001).

Há evidências de que a obesidade induzida por dietas hiperlipídicas, bem como mutações do gene da leptina estão associadas com elevadas concentrações circulantes de resistina (SAVAGE, D.B. et al, 2001). O envolvimento da resistina no processo inflamatório crônico, associado à obesidade, parece justificar a presença dessa proteína encontrada em regiões inflamatórias no tecido adiposo de indivíduos obesos (GOMEZ-AMBROSI, J.; FRUHBECK, G., 2001).

2.12.4 Proteína estimuladora de acilação (ASP)

É produzida pelo tecido adiposo, constitui adipocitocina derivada da interação dos compostos conhecidos como Complemento C3, Fator B e Adipsina. Essa proteína vem sendo reconhecida como um estimulante da síntese e acúmulo de triacilglicerol no tecido adiposo, efeitos alcançados a partir da ação da adipocitocina em diferentes processos celulares (CIANFLONE, K; XIA, Z.; CHEN, L.Y. ET AL, 2003). .

Embora os receptores e mecanismos de sinalização mediados pela ASP ainda sejam desconhecidos, é provável que a proteína esteja envolvida na ativação do transporte da glicose, no aumento da reesterificação de ácidos graxos e na inibição da lipólise. Em alguns estudos com indivíduos obesos não revelaram aumento significante na

concentração plasmática de ASP. Entretanto, durante o jejum ou a perda de peso, ocorre redução nos teores sanguíneos de ASP (CIANFLONE, K; XIA, Z.; CHEN, L.Y. ET AL, 2003).

Maslowska et al (1997) mostraram que a elevação da secreção de ASP pelos adipócitos acompanha o aumento das concentrações sanguíneas de insulina. Outros estudos sugerem que lipídios circulantes também estimulam a expressão de ASP, após ingestão de grande quantidade desses nutrientes. Estudos utilizando cultura de adipócitos humanos revelaram aumento na secreção de ASP induzido por quilomicrons (CIANFLONE, K; XIA, Z.; CHEN, L.Y. ET AL, 2003).

Comuzzie et al (2001), demonstraram a existência de correlação entre as concentrações plasmáticas de ASP e os genes que controlam os teores circulantes de colesterol total, LDL-c e triacilgliceróis, solidificando a hipótese de que a ASP possa constituir elemento regulador do metabolismo lipídico em humanos.

2.12.5 Fator de necrose tumoral alfa (TNF-α)

O tecido adiposo possui várias citocinas pró-inflamatórias incluindo-se entre estas o Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF-α). Representa um produto dos macrófagos relacionados a distúrbios metabólicos e processos crônicos de inflamação (COPPACK, S.W., 2001). Investigações mais recentes têm revelado vínculo molecular mais estreito entre TNF-α e a obesidade, verificando-se que a expressão de TNF-α está aumentada na obesidade e diminui com a perda de peso corporal, melhorando a sensibilidade à insulina (FRUHBECK G.; GOMEZ-AMBROSI J.; MURUZABAL F.J.; BURRELL M.A., 2001).

Triacilgliceróis e ácidos graxos livres parecem exercer forte influência na indução da expressão de TNF-α. Há ainda indícios de que o aumento da expressão gênica de TNF-α no tecido adiposo bem como a sua elevada concentração plasmática poderiam induzir à obesidade, em parte por alterar a liberação na circulação de outras adipocitocinas, como o inibidor do ativador de plasminogênio-I (PAI-I) e a adiponectina (MORIN, C.L.; ECKE,L R.H.; MARCEL, T.; PAGLIASSOTTI, M.J., 1997).

2.12.6 Interleucina-6 (IL-6)

O tecido adiposo humano produz quantidades elevadas de interleucina-6 (IL-6). Essa secreção pode representar cerca de 10 a 30% dos teores circulantes dessa citocina multifuncional também produzida por outros tipos de células (VAN SNICK, J., 1996). O tecido adiposo visceral produz e secreta três vezes mais IL-6 do que o subcutâneo (FRIED, S.K.; BUNKIN, D.A.; GREENBERG, A.S., 1998).

O conteúdo plasmático de IL-6 apresenta-se positivamente relacionado ao aumento da massa corporal e, inversamente, à sensibilidade à insulina, TNF-α, glicocorticóides e catecolaminas, representam alguns importantes moduladores da expressão de IL-6 pelo tecido adiposo (FRIED, S.K.; BUNKIN, D.A.; GREENBERG, A.S., 1998).

De acordo com Nonogaki et al (1995) o impacto metabólico produzido pelo aumento da expressão de IL-6 nos depósitos corporais de gordura, pode ser de crucial importância na patogenia da obesidade. O conteúdo plasmático aumentado de IL-6 poderia estimular a síntese hepática de triacilglicerol, contribuindo para a hipertrigliceridemia associada à obesidade visceral.

Segundo Haddy et al (2003) citocina e mediadores inflamatórios tais como: o TNF-α e as moléculas de adesão e selectina.

2.12.7 Grelina

Outro hormônio recentemente descoberto que participa da regulação do balanço energético é a grelina, um peptídeo gástrico composto por 28 aminoácidos, que estimula a secreção do hormônio do crescimento e aumenta a adiposidade. A grelina induz fortemente a liberação do hormônio de crescimento, ativando regiões hipotalâmicas específicas (PINKNEY & WILLIAMS, 2002).

O hormônio grelina é produzido principalmente no estômago e por células neuroendócrinas funcionando como um sinalizador orexígeno, realizando uma ligação entre o trato gastrintestinal e o cérebro. A produção gástrica deste hormônio é regulada através de fatores nutricionais e hormonais. Dentre os sinais inibitórios, estão a leptina, a interleucina-1β, o hormônio de crescimento e a dieta hiperlipídica; por outro lado, a dieta hipoprotéica promove elevação da concentração plasmática de grelina (SHINTANI et al.

2001). Ela funciona como um "iniciador da refeição", seus níveis se elevam uma a duas horas antes de uma refeição, retornando os valores normais logo após a refeição (CUMMINGS et al., 2001; DATE et al., 2002).

A concentração plasmática de grelina aumenta progressivamente durante o jejum e diminuem até uma hora após a alimentação. A elevada concentração plasmática de grelina pode ativar a ingestão alimentar, isso foi confirmado em diversas pesquisas com roedores, nos quais a administração central (intracerebroventricular) e periférica (subcutânea e intraperitoneal) de grelina induziu à obesidade, devido ao aumento da ingestão alimentar e diminuição da oxidação lipídica (HINNEY et al., 2002). Estudos recentes em humanos têm demonstrado que a concentração plasmática de grelina está inversamente relacionada ao percentual de gordura corporal, ou seja, em indivíduos obesos a concentração plasmática de grelina apresenta-se bastante diminuída (TANAKA et al., 2002).

English et al. *(*2002), demonstraram que após a ingestão alimentar a concentração plasmática de grelina não diminuiu em indivíduos obesos. Isto poderia ocasionar um aumento do consumo alimentar, sugerindo que a grelina pode estar envolvida com a fisiopatologia da obesidade. Tanto a leptina quanto a grelina são fatores relacionados com funções endócrinas de sinalização central e participam da regulação da ingestão alimentar, no entanto possuem funções antagônicas. O hormônio grelina estimula e a leptina inibe o apetite. A análise das concentrações plasmáticas demonstrou que as secreções destes hormônios são sincronizadas e que ocorrem de forma pulsátil (BAGNASCO et al., 2002).

2.13 As fontes lipídicas dos alimentos

Os lipídios representam a fonte de energia mais concentrada do organismo, 1g de lipídio libera 9 kcal, enquanto 1g de glicídio, libera 4 kcal. Grande parte dos lipídios é ingerida na forma de triglicerídeos que compreendem uma molécula de glicerol mais três de ácidos graxos ligados a ele. A composição desses ácidos graxos caracteriza os triglicerói s. (MURRAY et al, 2002).

Os lipídios são um dos componentes essenciais da dieta, pois: fornecem energia; contêm ácidos graxos essenciais, precursores de eicosanóides, que não são produzidos pelo organismo; auxiliam no transporte e na absorção das vitaminas lipossolúveis A, D, E e K pelo intestino (LEHNINGER e NELSON, 2002; CURI et al, 2004). Eles desempenham funções importantes no organismo como: constituintes de membrana, isolantes térmicos, armazenamento e fornecimento de grandes quantidades de energia potencial para o trabalho biológico (MURRAY et al, 2002).

Os triglicerídeos fornecem mais que o dobro de energia por peso que os carboidratos ou as proteínas, apresentando uma reserva de 50.000 a 60.000 kcal em todo o organismo (PHITON-CURI et al, 2004). Porém, os triglicerídeos são menos eficientes como combustíveis corporais que os carboidratos, por serem mais difíceis de serem decompostos (MURRAY et al, 2002).

Há os triglicerídeos intramusculares que se armazenam como glóbulos na fibra muscular, com uma reserva energética de 2.000 a 3.000 kcal, colocando esta grande fonte de energia mais próxima dos locais de oxidação, ou seja, as mitocôndrias. Contudo, pouco se sabe sobre a utilização dessa fonte de energia durante o exercício ou como ocorrem as modificações nessas reservas energéticas em resposta ao treinamento agudo ou crônico (PHITON-CURI et al, 2004).

Os ácidos graxos apresentam em suas extremidades grupamentos funcionais carboxila (COOH) e metil (CH3), ligados a uma cadeia carbônica, a qual pode variar conforme o número de insaturações em: Saturados, Monoinsaturados e Poliinsaturados; e ainda, quanto ao comprimento da cadeia em: curta, média e longa (LEHNINGER e NELSON, 2002).

Variações no comprimento, insaturações e arranjo estrutural, conferem aos ácidos graxos diferentes propriedades físicas, químicas e biológicas (MURRAY et al, 2002). Dentre os ácidos graxos que compõem os triglicerídeos, os Poliinsaturados (PUFAs), classificados por terem duas ou mais insaturações, estão presentes nos óleos vegetais. Entretanto, mais de 95% dos óleos comestíveis são constituídos por triacilglicerídeos, além desses, os óleos podem conter outros componentes como: mono e diglicerídeos, ácidos graxos livres, tocoferol, esteróis e vitaminas lipossolúveis (FARIA et al, 2002).

Os ácidos graxos mais comuns nos alimentos apresentam número par de átomos de Carbono, de 12 a 22 C. Nos alimentos preparados há também ácidos graxos mais curtos, mais compridos e com número ímpar de Carbono (SALEM, 1999).

Os ácidos graxos saturados são encontrados, predominantemente, em alimentos de origem animal como: carne, ovos, queijo, leite e manteiga, e nos de origem vegetal, como: óleos de côco e dendê, além dos produtos vegetais hidrogenados (SALEM, 1999). Exemplificando, tem-se os ácidos graxos Caprílico (C8:0) e o Cáprico (C10:0), presentes em óleos de côco e dendê; o Palmítico (C16:0) e o Esteárico, encontrado nas gorduras (CARVALHO et al, 2002).

O ácido graxo Oléico (C18:1) é o mais comum ácido graxo monoinsaturado (MUFA) presente na maioria das gorduras animais: aves, carne bovina e cordeiro, e, também em azeitonas, sementes e nozes (SALEM, 1999). Os PUFAs são classificados nas séries ômega 9 (n-9), ômega 6 (n-6) e ômega 3 (n-3). A diferença entre eles está na posição da primeira dupla ligação. O ácido Linoléico (C18:2) é expoente da série (n-6) e está presente nos óleos vegetais como: óleo de girassol, milho, soja, algodão, etc. (SALEM, 1999). O ácido Linolênico (C18:3) da família n-3, muito encontrado em sementes oleaginosas como: canola, soja e linhaça (SALEM, 1999).

Nos vegetais como: algas, microalgas e fitoplancton e em animais de origem marinha, como: peixes e crustáceos há outros ácidos graxos que apresentam maior número de Carbono e com maior quantidade de dupla ligações, os quais pertencem à série n-3, como: Ácido Eicosapentaenóico (EPA, C20:5) e o Ácido Docosahexaenóico (DHA, C22:6) (GIBSON, 2004). A formação desses PUFAs n-3, pelas algas marinhas, e sua transferência da cadeia alimentar aos peixes, favorecem sua abundância em óleos de peixe de origem marinha (GIBSON, 2004).

2.14 Consumos de gorduras na atualidade

Os hábitos alimentares contemporâneos foram alterados em consequencia do estilo de vida da população. O processo de industrialização e os avanços tecnológicos implicaram na modificação das estruturas familiares e influenciaram na desestruturação das refeições (PROENÇA, 2002). De acordo com os dados da Pesquisa de Orçamento

Familiar (POF 2002-2003) realizada em todo Brasil (IBGE, 2005) a proporção de calorias lipídicas no meio urbano, já se aproxima do limite máximo de 30% fixado pelas recomendações nutricionais. O excesso de gordura decorre em maior parte de óleos e gorduras vegetais como: óleo de soja e margarina na dieta urbana. (FRANCO, 2007).

O National Cholesterol Education Program (NCEP, 2001) recomenda para um estilo de vida saudável e prevenção de doenças cardiovasculares, a ingestão de 25 a 30% de gordura do total calórico/dia, sendo: menos de 7% de gorduras saturadas; até 10% de gorduras poliinsaturadas; 20% de gorduras monoinsaturadas e menos de 200mg/dia de colesterol, uma vez que as características da dieta podem exercer influência decisiva sobre o estado de saúde dos indivíduos (MONDINI e MONTEIRO, 2005). Pois, há uma relação desses nutrientes com o desencadeamento de doenças degenerativas não transmissíveis (SALGADO, 2000).

2.15 Importância fisiológica e nutricional dos lipídios

Os lipídios formam um grupo de compostos cuja natureza química é extremamente variada, sendo solúveis em solventes orgânicos e insolúveis em água. De modo geral, a gordura da dieta no organismo desempenha diversas funções biológicas importantes, entre as quais, fornece e armazena energia, promove proteção e estrutura celular. Compostos classificados como lipídios atuam como mediadores da função celular (COSTA e SILVA, 2002).

Os lipídios desempenham outras funções, servem como veículo para a mobilização de vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K) e fornecem os ácidos graxos poliinsaturados essenciais porque não podem ser sintetizados no organismo devido à ausência das enzimas D12 dessaturase e D15 dessaturase, desse modo devem ser fornecidos por meio da dieta (GIBSON, 2004).

Os PUFAs provenientes da dieta são emulsificados no estômago. No duodeno, os lipídios emulsificados sofrem lipólise pela ação da lípase pancreática. Os produtos da hidrólise lipídica (colesterol livre, monoglicerídeos e ácidos graxos) são solubilizados pelos sais biliares de forma a permitir a movimentação mais rápida para os pontos de absorção (GUYTON e HALL, 1997).

Os PUFAs são absorvidos, acilados e incorporados em glicerolipídeos na mucosa intestinal, transportados através da linfa e da circulação sanguínea sob a forma de quilomicrons, lipoproteínas ricas em triglicerídeos, sintetizados no enterócito. Estas lopoproteínas são posteriormente hidrolisadas nos tecidos periféricos e no fígado, liberando ácidos graxos, que serão captados pelo fígado (GUYTON e HALL, 1997).

Os ácidos graxos endógenos e exógenos e o colesterol são incorporados em lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDLs), as quais são secretadas na circulação e transportadas para os tecidos periféricos, onde, via lípase lipoprotéica fornecem ácidos graxos para os tecidos. Por outro lado, as lipoproteínas de baixa densidade (LDLs) são potencialmente aterogênicas, sendo que grande parte delas é removida pelos receptores hepáticos de LDL (receptores B e E) (LEHNINGER e NELSON, 2002).

Esse é um dos mecanismos propostos para ação dos ácidos graxos saturados, o que pode inibir a remoção plasmática da partícula de LDL e também aumentar os níveis de triglicérides no plasma, o que parece decorrer de estímulo na secreção hepática de triglicerídeos sob a forma de VLDL (LEHNINGER e NELSON, 2002).

Após a digestão, os PUFAs absorvidos nas células e tecidos são acilados e passam a construir lipídeos estruturais de membrana, e no caso do ácido linoléico (18:3; n-3), podem ser dessaturados e elongados a ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa, com 20 ou mais átomos de Carbono. Tal processo é realizado por sucessivas etapas que envolvem elongamento e dessaturação da cadeia carbônica dos ácidos graxos (DOMMELS et al, 2002).

Todo ácido graxo poliinsaturado derivado das famílias n-9, n-6 e n-3, pertencerá às suas famílias de origem (HONSTRA, 2001). O ácido linoléico pode ser metabolizado em outros ácidos n-6, incluindo os ácidos γ-linolênico, dihomo γ-linolênico e araquidônico. O ácido α-linolênico é metabolizado em outros da série n-3, entre eles o ácido eicosapentaenóico (EPA) e ácido docosahexaenóico (DHA). Este processo metabólico é mediado pelas enzimas elongases e dessaturases (MURRAY et al, 2002).

Os ácidos linolênico (C18:3n-3) e o linoléico (C18:2n-6), apesar de pertencerem a famílias distintas , requerem as mesmas enzimas para seu metabolismo e portanto,

competem entre si, especialmente no passo limitante da reação de dessaturação, ao nível de Δ6 dessaturase, essa enzima tem maior especificidade pelos ácidos graxos ômega 3, assim, necessita de menores quantidades destes ácidos que o ômega 6 para produzir a mesma quantidade de produto (FACIOLI e BARRERA, 2001).

Dessa forma, o excesso de um pode interferir no metabolismo do outro (FARIA et al, 2002; BALCÃO et al, 1998). É provável que exista uma proporção maior de ácido linoléico comparado ao α-linolênico, não subestimando a necessidade do equilíbrio entre o aporte dos dois ácidos graxos através da dieta. Pois, um excesso de ácido linoléico vai impedir a transformação do α-linolênico em seus derivados EPA e DHA. O mesmo acontecerá no caso contrário, onde um menor consumo do ácido linoléico leva à diminuição da formação do seu derivado, o ácido araquidônico (MORETTO e FETT, 1998).

2.16 Resposta imunológica

O sistema imunológico protege o indivíduo através de diferentes mecanismos celulares e moleculares que são projetados para identificar as suas próprias células e substâncias, mas também para detectar e destruir organismos estrangeiros e seus produtos (MCHEYZER-WILLIAMS, 1997; ABBAS, JANEWAY, 2000).

Quando o organismo é invadido por um agente infeccioso, o sistema de defesa local pode ser suficiente para impedir a replicação e a disseminação do agente infeccioso, impedindo, portanto, o desenvolvimento da doença. Neste mecanismo de defesa orgânico a célula implicada inicialmente é o macrófago (UTHAISANGSOOK et al, 2002; PEAKMAN e VERGANI, 1999; CHANDRA, 1997). Esses elementos inatos atuam como a primeira linha de proteção e retardam o estabelecimento da manifestação infecciosa (CHANDRA, 1997).

A resposta imune é fundamental na defesa contra agentes infecciosos e se constitui no principal impedimento para a ocorrência de infecções locais e disseminadas. Sabe-se que para a quase totalidade das doenças infecciosas, o número de indivíduos expostos à infecção é bem superior ao dos que realmente apresentam doença, indicando que a

maioria das pessoas tem condições de destruir esses microorganismos e impedir a progressão da infecção (JANEWAY, 2001).

Por outro lado, as deficiências imunológicas, sejam da imunidade inata (disfunções de células fagocíticas e deficiência de complemento) ou a imunidade adaptativa (deficiência de produção de anticorpos ou deficiência da função de células T), são fortemente associadas com aumento da susceptibilidade a infecções (MACHADO et al, 2004).

Os processos imunológicos envolvidos na defesa do organismo são afetados pelo estado nutricional. Assim, um desequilíbrio crônico entre ingestão e gasto energético conduz a situações de obesidade, que podem influenciar de forma inespecífica e específica nas respostas imunes humoral e celular (WOMACK et al, 2007). De acordo com Alves (2006), essas repercussões imunológicas mais a complexa interação que existe entre elas, levam o indivíduo obeso a modificar sua resposta imune, tanto na imunidade inata quanto na imunidade adquirida.

A resposta imunológica frente às agressões agudas e crônicas na obesidade está afetada devido às alterações das concentrações de mediadores inflamatórios, de populações linfocitárias, de células fagocitárias, de células apresentadoras de antígeno, pela ativação do sistema de complemento etc. Estudo com mulheres portadoras do vírus HIV, com diferentes pesos corporais, apresentou que as associações entre peso e diminuição das contagens de células imunes ficaram mais fortes com o aumento (WOMACK et al, 2007).

A ativação do Sistema Nervoso Simpático (SNS) e os eventos sequenciais do eixo HPA parecem possuir uma relação intrínseca com os componentes do sistema imune, não só pela presença de receptores hormonais em leucócitos, mas também pela relação anatômica observada entre os três sistemas (OTTAVIANI e FRANCESCHI, 1996). As células do sistema imune parecem possuir receptores para as β-endorfinas, catecolaminas, cortisol, hormônio do crescimento (GH) e diversos outros mediadores envolvidos na reação ao estresse (GAILLARD, 1994).

O cortisol, em pequenas quantidades, melhora a função imune, pois, estimula a migração de células da medula para a circulação, assim como, dos linfonodos para os tecidos lesionados (BRENNER et al, 1998). Entretanto, o aumento da concentração de cortisol no sangue pode causar linfocitopenia, monocitopenia e neutrofilia em humanos (PEDERSEN e HOFFMAN-GOETZ, 2000).

Este hormônio inibe a migração de células inflamatórias para locais lesionados, a proliferação de linfócitos, a função de macrófagos e limita a atividade das células NK (WOODS, 1999). Além disso, parece induzir baixa na regulação de receptores de linfócitos T e aumentar a taxa de catabolismo, reduzindo as reservas de aminoácidos que são necessários para proliferação de linfócitos B e síntese de imunoglobulinas (NASCIMENTO et al, 2001). As células imunocompetentes parecem possuir não só receptores hormonais, mas também a capacidade para produzir e secretar alguns hormônios e neuropeptídeos (GAILLARD, 1994).

Os adipócitos que possuem propriedades inflamatórias intrínsecas são sensíveis a agentes infecciosos e a sinais inflamatórios mediados por citocinas, além disso, essas células expressam receptores que são capazes de detectar a presença de patógenos e de mediadores inflamatórios (RAMALHO e GUIMARÃES, 2008). De acordo com Bergh e Scherer (2005) os adipócitos podem reagir a vários mediadores inflamatórios e a diversos componentes da parede celular de microrganismos.

Os receptores ao serem estimulados ativam diversos sinais de transdução da cascata inflamatória, induzindo assim, a expressão e secreção de proteínas de fase aguda e mediadores da inflamação (BERGH E SCHERER, 2005). Duas citocinas em especial, são sintetizadas e secretadas pelo tecido adiposo e que são: o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e a interleucina 6 (IL-6), as quais estão sensivelmente elevadas na obesidade. São peptídeos vasoativos, os quais podem contribuir para a ativação endotelial e o estado pró-inflamatório (NASCIMENTO, HABITANTE e OYAMA, 2003).

A elevada quantidade de tecido adiposo em indivíduos obesos tem contribuído para uma relação direta entre obesidade e inflamação sistêmica (BERGH E SCHERER (2005). Hotamisligil *et al* (1993) demonstraram pela primeira vez a existência de um estado inflamatório relacionado ao tecido adiposo e seu papel na obesidade. Observou

ainda a expressão da citocina pró-inflamatória (TNF-α) no tecido adiposo branco induzida pela obesidade, além disso, demonstrou que a elevada expressão desta citocina contribuiu para a resistência à insulina de forma sistêmica e para uma relação direta entre obesidade e inflamação sistêmica (BERGH E SCHERER, 2005).

Atualmente, alguns autores relatam que a obesidade está associada a existência de uma resposta inflamatória crônica caracterizada por uma produção excessiva de adipocinas, ativação de algumas vias de sinalização pró-inflamatória e consequentemente a indução de diversos marcadores de inflamação (SARTIPY e LOSKUTOFF, 2003).

Os marcadores que estão presentes em níveis elevados na obesidade são a proteína C-reativa (PCR), o fator de necrose tumoral-α (TNF-α), a interleucina-6 (IL-6) entre outros. Além disso, a quantidade elevada de IL-6 circulante leva a um aumento nos níveis séricos de PCR que em indivíduos obesos pode causar o diabetes tipo 2 em pouco tempo, por contribuir com resistência à insulina (BARZILAY et al, 2001) .

Há estudos que identificam células do sistema imune (monócitos/macrófagos) como participantes ativos na inflamação induzida pela obesidade e suas complicações (FERRANTE JR, 2007). A infiltração e elevação de macrófagos no tecido adiposo branco parecem ser multifatoriais. As vias de sinalização sejam elas parácrinas, autócrinas e endócrinas assim como as modificações mecânicas (hiperplasia e hipertrofia do adipócito) parecem possuir um papel importante nesse processo (CANCELLO e CLÉMENT, 2006).

Os macrófagos pertencem ao sistema dos fagócitos mononucleares e constituem a segunda maior população celular do sistema imune. Após o contato com o agente agressor, agem liberando citocinas que iniciam e amplificam processo inflamatório (MÁRTON, KISS, 2000).

A atração e retenção de macrófagos no tecido adiposo branco parecem estar relacionadas com uma hipoxia do tecido adiposo. Sabe-se que a hipoxia tecidual local induz a atração e manutenção de macrófagos em alguns tumores sólidos e placas de ateroma (MURDOCH et al, 2005).

Em indivíduos obesos, o tecido adiposo encontra-se pouco vascularizado devido a grande expansão desse tecido e o consequente afastamento entre vasos e adipócitos

levando-os à hipoxia e posterior necrose (BELTOWSKI, 2006). Diversos autores têm sugerido que essa hipoxia estimula a liberação de citocinas pró-inflamatórias e do Fator de Crescimento do Endotélio Vascular (VEGF), levando a um aumento no fluxo sanguíneo e estimulando a vascularização (TRAYHURN e WOOD, 2005).

Estudos têm demonstrado que a maioria dos agregados de macrófagos no tecido adiposo está localizada em torno de adipócitos mortos, sugerindo que esses macrófagos possuem uma função de limpeza de células necrosadas do tecido adiposo (CINTI et al, 2005). Também foi observado um agregado de macrófagos no processo de formação de novos vasos em locais de inflamação e áreas isquêmicas (CURSIEFEN et al, 2004).

Assim os macrófagos podem contribuir para o controle local da expansão da massa gorda e sua função biológica (CANCELLO E CLÈMENT, 2006). Neste sentido, o macrófago produz duplo efeito sobre o tecido adiposo branco, que seria um efeito benéfico local, controlando e limitando o desenvolvimento de massa gorda e simultaneamente um efeito deletério sistêmico através da produção e secreção de quimiocinas e citocinas inflamatórias que favorecem a geração e progressão das complicações relacionadas à obesidade (PERMANA et al, 2006).

Doenças como a aterosclerose, são iniciadas após ativação de macrófagos locais, na parede dos vasos. Por definição são doenças inflamatórias o que demonstra a importância do papel dos macrófagos neste tipo de patologia e por serem também, as principais fontes das citocinas pró-inflamatórias. Estão envolvidos na resposta imunológica inespecífica através da liberação de citocinas que iniciam o processo inflamatório e participam também da resposta específica como células apresentadoras de antígeno (MARTON e KISS, 2000).

2.17 Microbiota oral

Um parasita é um organismo que habita a superfície ou o interior de outro organismo vivo, a fim de encontrar o ambiente e as condições necessárias ao seu crescimento e reprodução. Cada categoria de microrganismo apresenta características próprias que determinam formas de relação com os hospedeiros e, assim, levam às características das doenças causadas pelos organismos. Se o parasita lesar o hospedeiro

em grau suficiente, os distúrbios resultantes manifestar-se-ão sob a forma de doença (JAWETZ et al, 1991).

Porém, nem sempre os microrganismos são maléficos ao hospedeiro, algumas espécies apresentam benefícios à saúde. A superfície das mucosas e da pele do organismo humano é colonizada por uma microbiota característica. Esta faz parte dos constituintes da resposta imune inata. Poucas regiões do organismo não apresentam microrganismos; como exemplos têm-se a laringe, o cérebro e os órgãos internos. A microbiota normal, os organismos que vivem no nosso corpo sem causar doença, é imprescindível para a proteção contra o estabelecimento de micróbios patogênicos (MANDELL et al, 2005).

Os microrganismos encontrados constantemente nas superfícies corporais são comensais. Seu desenvolvimento em uma determinada área depende de fatores fisiológicos como temperatura, umidade e da presença de certas substâncias nutritivas e inibitórias. Sua presença em certas regiões desempenha um papel definido na manutenção da saúde (BURTON, ENGELKIRK, 2005).

Nas mucosas e na pele, a microbiota endógena pode impedir a colonização por microrganismos patogênicos e possível doença. Quando o número habitual de microrganismos residentes está muito reduzido, os invasores oportunistas podem, então, se estabelecer mais facilmente (BURTON, ENGELKIRK, 2005).

O feto é normalmente asséptico, *in* útero. Durante e após o nascimento, um recém-nascido é exposto a muitos microrganismos de sua mãe, do alimento, do ar e de tudo com que ele entra em contato. Tanto os micróbios benéficos quanto os nocivos se instalam na pele, em todas as partes abertas do corpo, bem como nas membranas mucosas da boca, ânus e trato urogenital. Nestas áreas, a umidade e o ambiente aquecido fornecem excelentes condições para o crescimento. Durante a infância a população bacteriana aumenta. As proporções dos microrganismos cultiváveis predominantes na área do sulco gengival de crianças em idade pré-escolar assemelham-se bastante àquelas encontradas em adultos. (JORGE, 1998).

Na cavidade oral, por exemplo, é encontrada uma das mais concentradas e variadas populações microbianas, cuja localização principal está no dorso da língua, no

sulco gengival e na placa dental coronariana (LINDHE, 2005). Estima-se que a saliva contém 10^8 bactérias/mL e as placas dentais, 10^{11} bactérias/mL. Sendo então a microbiota da cavidade oral um ótimo local de estudo da imunidade inata formada pelas bactérias sapróbias (GUTIÉRREZ et al, 2003). .

2.18 Obesidade, imunidade e doença

A obesidade está a tornar-se um motivo de preocupação em pacientes criticamente doentes. Estudos clínicos e epidemiológicos mostram que a incidência e a gravidade das doenças infecciosas são maiores em indivíduos obesos quando comparadas a pessoas magras (FASOL et al, 1992; GOTTSCHLICH et al, 1993; MOULTON, 1994; STALLONE, 1994).

A obesidade tem sido identificada como um fator de risco de infecção e bacteremia quando comparados com pacientes com peso adequado (GOTTSCHLICH et al, 1993). Também há relatos da deficiência na produção de anticorpos após vacina de hepatite B (WEBER et al, 1986). Apesar das evidências destes dados de imunocompetência em humanos, ainda há poucos estudos relacionando a resposta imune de obesos e eutróficos, e os que existem mostram apenas uma pequena gama de análises imunológicas (NIEMAN, et al, 1999).

Chandra e Kutty (1980) constataram que 38% das crianças e adolescentes obesos apresentaram um comprometimento da resposta imune mediada por células, tais como: atraso na hipersensibilidade cutânea e uma redução na capacidade de leucócitos polimorfonucleares em matar bactérias intracelulares.

Outro estudo experimental sobre a influência da obesidade na resposta imune em uma população adulta indica que a obesidade está relacionada com a elevação de leucócitos e linfócitos, que foram acompanhadas de maior fagocitose por mais monócitos e granulócitos. Os autores deste estudo sugerem que o colesterol sérico, triglicérides e glicemia podem estar relacionados a prejuízos em vários aspectos da imunidade (NIEMAN et al, 1999).

2.19 Sedentarismo e excesso de peso

Nas últimas décadas, o sedentarismo também tem sido considerado como epidemia global. Nos países desenvolvidos, os níveis de atividade física foram drasticamente reduzidos, esta redução é observada de forma mais intensa, entre as populações de mais baixa renda, estimando-se que a inatividade física de lazer seja significativamente maior quando comparada com a população de renda mais alta (MOKDAD et al, 2000).

O modelo urbano atual favorece principalmente o tráfego de automóveis, aliado à insegurança dos bairros dos subúrbios, contribuindo para que as populações de mais baixa renda estejam mais vulneráveis ao sedentarismo e à obesidade (EWING e CERVERO, 2001). O mesmo pode ser verificado nos países em desenvolvimento, onde se verifica uma tendência crescente à inatividade física recreativa, afetando também as populações de renda mais baixa (JACOBY, 2004).

Diversos itens de conforto parecem contribuir de forma significativa para a diminuição do gasto energético, como os controles remotos, telefones celulares, elevadores, escadas rolantes, entre outros, os quais se tornam cada vez mais presentes no estilo de vida moderno (KING et al, 2000). Os hábitos de assistir televisão, jogar videogame e utilizar computador, parecem desempenhar um papel importante na etiologia da obesidade. Estudos com crianças relataram uma média de 28 h de televisão por semana, demonstrando uma relação direta com o risco de obesidade (GORTMAKER et al, 1996).

A OMS já reconheceu este ambiente obesogênico, como fator determinante para o rápido crescimento da prevalência da obesidade e recomendou que fossem adotadas medidas de mudança ambiental para prevenir o ganho de peso (MARGETTS, 2004).

2.20 Exercício físico na prevenção da saúde

O exercício físico, a depender de sua magnitude, parece alterar a resposta imunológica (DRELA et al., 2004), se esta atuação é benéfica ou deletéria, poderá depender da intensidade, da freqüência e da duração do esforço. Particularmente o treinamento físico de intensidade moderada está associado a benefícios para a saúde

(NIEMAN, 2000) e a melhoria de muitas funções imunes, parecendo retardar ou prevenir a incidência e a progressão de alguns tumores (SMITH et al., 1996).

Há também relatos de uma baixa incidência de infecções do trato respiratório superior em indivíduos que se exercitavam regularmente (HEATH et al., 1991). A relação entre exercício físico e saúde vem se consolidando nos últimos anos. Encontra-se na literatura diversos trabalhos relacionando os efeitos do exercício físico com as funções do sistema imunológico (NIEMAN et al, 1990a; NIEMAN et al., 1990b; FITZGERALD, 1991; HEATH et al., 1991; BLANNING et al., 1998).

Ferry et al (1993) observaram um aumento no percentual de linfócitos $TCD4^{+}$ em animais treinados quando comparados aos seus pares sedentários. Em animais treinados e posteriormente inoculados com o tumor de Walker-256, foi observado um aumento da função linfocitária e da atividade fagocítica de macrófagos (BACURAU et al, 2000). Nascimento et al (2004) observaram em ratos treinados (6 semanas de natação), um aumento na taxa de fagocitose de macrófagos.

Assim, o treinamento físico de intensidade moderada parece promover adaptações fisiológicas e imunológicas que repercutem de forma positiva no organismo, enquanto que o treino intenso parece enfraquecê-lo (NEHLSEN-CANARELLA, 1998; PYNE e GLEESON, 1998; PEDERSEN E HOFFMAN-GOETZ, 2000).

Durante o exercício verifica-se um aumento nas concentrações de dopamina e noradrenalina em nível cerebral. Em consequência, há secreção de hormônio liberador de corticotrofina (CRH) em nível hipotalâmico. A corticotrofina (ACTh) e as β-endorfinas são então liberadas pela pituitária anterior. A descarga de ACTh estimula o córtex adrenal a produzir glicocorticóides e aminas biogênicas (BRENNER et al., 1998).

Do exposto, depreende-se que a obesidade e a atividade física podem modificar a resposta imunológica. Estudos experimentais em ratos demonstram que, a desnutrição no período neonatal, período crítico de crescimento e desenvolvimento do animal, pode mesmo após uma adequada alimentação, favorecer a um estado de obesidade, no animal adulto. Assim, são poucos os estudos sobre os eventuais efeitos da desnutrição imposta no

início da vida, seguida de longo período de recuperação nutricional na função imune e na predisposição a obesidade (PEDERSEN E HOFFMAN-GOETZ, 2000).

São escassos os estudos que associam fatores como a dieta hiperlipídica (obesidade), a resposta imunológica e o efeito da atividade física. Assim, estudos que visem a analisar esses fatores isolados e a associação entre eles são de grande relevância uma vez que a obesidade leva a outras patologias e atualmente é endêmica principalmente, em nossa região (PEDERSEN E HOFFMAN-GOETZ, 2000).

3 MÉTODOS

3.1 Desenho do estudo

Trata-se de um estudo experimental, prospectivo, pareado e aleatório.

3.2 Animais

Foram utilizados 40 ratos machos, albinos, da linhagem *Wistar*, com 21 dias de vida, provenientes da colônia do Biotério do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco. Os animais foram mantidos em biotério em gaiolas individuais, metabólicas, contendo um animal por gaiola a uma temperatura constante de 23±1ºC, em ciclo claro/escuro de 12/12 horas (claro: 7às 19h; escuro: 19 às 7 horas), tendo acesso livre à água e à ração.

Os animais foram obtidos acasalando-se machos e fêmeas com idades entre 90 e 120 dias, na proporção de um macho para três fêmeas, por um período de 16 dias. Estes animais eram mantidos em biotério em gaiola de metileno com tampa de arame zincado, contendo no máximo 3 animais por gaiola, em ciclo claro/escuro de 12 em 12 h a uma temperatura constante de 23±1ºC (HARKNESS, 1993).

O diagnóstico da prenhez foi feito pela observação do crescimento do ventre. As ratas prenhas eram separadas das demais e colocadas em gaiolas individuais. Um dia após o nascimento, a ninhada foi padronizada em seis filhotes machos por mãe, pois, este número parece conferir maior potencial lactotrófico (FISHBERG e RASMUSSEN, 1987). Durante o período de aleitamento (21 dias) as ninhadas foram pesadas diariamente. Após o desmame, no 22º dia de vida, os animais foram divididos em dois grupos, segundo o regime dietético empregado:

1) **Hiperlipídico (H)** – constituído por 20 filhotes alimentados com dieta hiperlipídica palatável, por 18 semanas (TABELA 2);
2) **Controle (C)** – constituído por 20 filhotes alimentados com Labina, dieta adotada como padrão pelo biotério, por 18 semanas (TABELA 2).

Os ratos de cada grupo foram pesados em dias alternados e os comedouros foram pesados diariamente. Durante o período de experimentação os animais foram mantidos em gaiolas metabólicas individuais, em ambiente com temperatura constante de 23±1ºC, com foto período artificial de 12/12 horas. Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, e seguiu as normas sugeridas pelo Comitê Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

3.3 Grupos experimentais

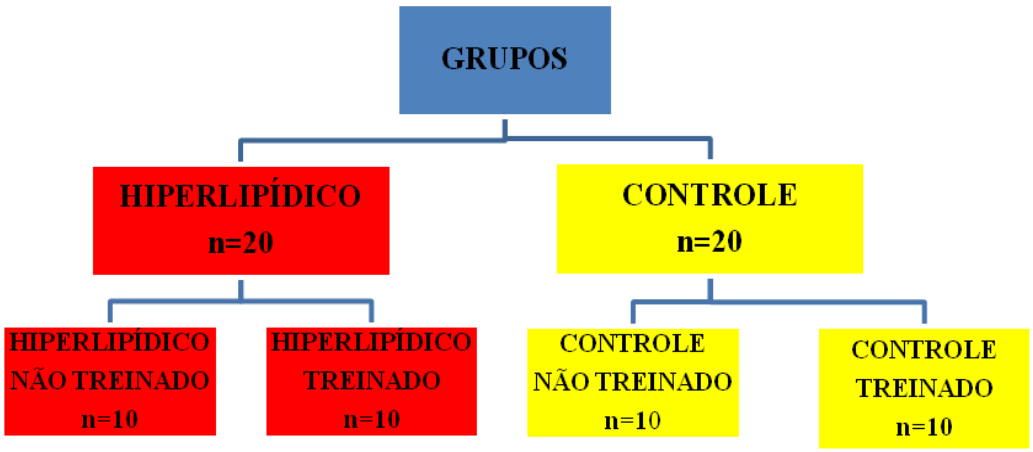


Figura 1. Organograma geral da distribuição dos grupos.

3.4 Evolução ponderal

O peso corporal de todos os animais foi aferido diariamente do primeiro dia de vida até o final do período de aleitamento (21 dias), a fim de identificar possíveis anormalidades de peso corporal antes da imposição das dietas. Assim, foram escolhidos animais com pesos equivalentes para formarem os distintos grupos. Após o desmame até o final da administração das dietas, a pesagem foi realizada em dias alternados.

3.5 Consumo alimentar e calórico

Com a finalidade de identificar o consumo alimentar e calórico dos grupos H e C, ao iniciar o período de consumo das dietas, os animais foram acondicionados em gaiolas metabólicas próprias para este fim, por 90 dias. Durante este período, a dieta disponibilizada, o rejeito limpo e o rejeito sujo foram pesados diariamente. Para cálculo

do consumo alimentar foi aplicada a seguinte fórmula: Consumo A= dieta oferecida-dieta rejeitada* (*Dieta rejeitada = rejeito limpo + rejeito sujo).

O consumo calórico foi identificado com base no consumo alimentar diário e na quantidade de calorias de cada dieta.

3.6 Dieta hipercalórica e hiperlipídica

A dieta hipercalórica e hiperlipídica, previamente padronizada, consistiu de uma mistura de alimentos hipercalóricos descrita e utilizada por Estadella et al (2004) e Duarte et al (2006). É composta por ração comercial Labina, amendoim torrado, chocolate ao leite e biscoito maisena, na proporção 3:2:2:1. Destes constituintes, a ração, o amendoim e o biscoito foram moídos em trituradores elétricos, enquanto o chocolate foi derretido em banho Maria. Todos os ingredientes foram misturados até formarem uma massa que foi posteriormente aquecida em estufa e oferecida na forma de péletes. Em média, eram confeccionados quatro quilos desta dieta por semana. A densidade calórica encontrada para a dieta hiperlipídica palatável foi de 4,8 kcal/100g (24,5% de Lipídeos), enquanto que a dieta padrão apresentou 2,7 kcal/100g (4% de Lipídeos).

Tabela 2. Ingredientes necessários para confecção de 4,0 kg de dieta hipercalórica.

INGREDIENTES	QUANTIDADE
Ração Labina	**1,5 kg**
Amendoim torrado	**1,0 kg**
Chocolate ao leite	**1,0 kg**
Biscoito Maisena	**0,5 kg**
Total	**4,0 kg**

Figura 2. Ingredientes da dieta hipercalórica e hiperlipídica

Figura 3. Dieta hipercalórica e hiperlipídica pronta

Tabela 3. Composição centesimal das dietas padrão e hiperlipídica

NUTRIENTES/ CALORIAS	DIETA PADRÃO	DIETA HIPERLIPÍDICA
Proteínas (g/100g)	**23,0**	**17,93**
Lipídios (g/100g)	**4,00**	**24,50**
Carboidratos (g/100g)	**63,0**	**47,18**
Cinzas (g/100g)	**-**	**3,62**
Umidade e substâncias voláteis (g/100g)	**-**	**6,77**
Calorias (kcal/100g)	**275,00**	**480,94**

3.7 Treinamento físico moderado

Aos 90 dias de vida, os animais de cada grupo foram subdivididos em 2 grupos, formando um total de 4 grupos, compostos por 10 animais cada: Grupo Hiperlipídico (H)(n=10), Grupo Hiperlipídico Treino (HT)(n=10), Grupo Controle(C)(n=10), e Grupo Controle Treino (CT))(n=10). Os animais do grupo treino foram submetidos à natação (8 semanas, 5dias/sem, 45min/dia). Uma hora antes do primeiro treino e vinte e quatro horas após a última sessão de treino foram coletadas amostras de sangue, através de uma pequena incisão na ponta da cauda dos ratos.

SEMANAS	DIAS	TEMPO (min)	SOBRECARGA (%)
1	**1** **2** **3** **4** **5**	**10** **20** **30** **40** **45**	**NENHUMA ADAPTAÇÃO**
2	**Todos**	**45**	**1%**
3	**Todos**	**45**	**2%**
4	**Todos**	**45**	**2%**
5	**Todos**	**45**	**3%**
6	**Todos**	**45**	**3%**
7	**Todos**	**45**	**4%**
8	**Todos**	**45**	**4%**

Figura 4. Protocolo de Natação (8 semanas – 5 dias/semana – 45 min/dia) (Nascimento et al, 2001; modificado por Porto, 2009)

Assim, formaram-se os grupos: **1. Hiperlipídico (H); 2. Hiperlipídico Treino (HT); 3. Controle (C) 4. Controle Treino (CT).**

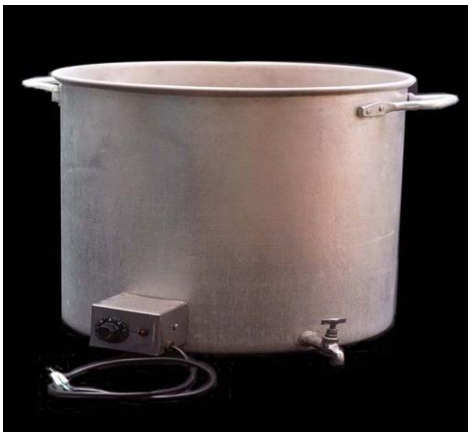


Figura 5. Tanque de natação (visão externa).

Figura 6. Tanque de natação (visão interna).

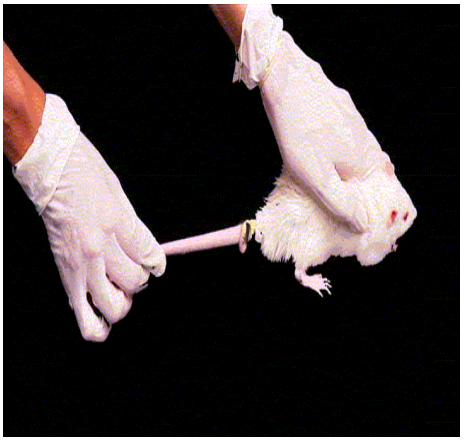


Figura 7. Colocação de peso na cauda.

Figura 8. Rato em treinamento de natação.

Figura 9. Rato em controle de estresse aquático.

Figura 10. Rato em aquecimento pós-treino.

3.8 Microbiota oral

3.8.1 Coleta de material para cultura

Realizou-se coleta da cavidade oral de todos os animais após as 18 semanas de administração das dietas. Cada animal foi segurado na posição vertical de modo que suas patas fossem imobilizadas. A flora bacteriana oral foi coletada através de *swabs* estéreis embebidos em 40 µ

l de solução salina de NaCl 0,9%, estéril.

3.8.2 Análise bacteriológica

Após a coleta, cada *swab* foi depositado em tubo estéril contendo 960µL de meio de cultura BHI (Brain Heart Infusion), meio líquido enriquecido que permite o crescimento bacteriano. Posteriormente, fazia-se a homogeneização de cada uma destas amostras. Então, retirava-se 1.000µL com o auxílio de alça calibrada, 1µL. Este 1µL era semeado em placas de Petri contendo Agar-sangue e Agar-Levine, para isolamento e identificação das bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, respectivamente. Estas placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 37^0C por 48 horas. As bactérias que cresceram foram isoladas e, posteriormente, prepararam-se lâminas para a realização da coloração de Gram e a partir do resultado foram realizados testes específicos. As unidades formadoras de colônias (UFC) foram contadas e seus percentuais calculados.

3.9 Análise da série branca do sangue periférico

3.9.1 Obtenção das células do sistema imune

Uma hora antes do início do primeiro treino e vinte e quatro horas após a quarta e a oitava semana de treino, coletou-se uma pequena alíquota de sangue (0,5mL) da cauda dos animais para contagem total e diferencial de leucócitos do sangue (FIGURA 6). As amostras de sangue coletadas de todos os grupos foram distribuídas em tubos.

Figura 11. Coleta de sangue para contagem total e diferencial de leucócitos.

3.9.2 Leucograma

3.9.2.1 Contagem total de leucócitos

Para a realização do leucograma (contagem total e diferencial dos leucócitos). Extraiu-se 0,5 mL de sangue sendo depositado em tubo de 5 mL, previamente acrescido de 20µL de anticoagulante (EDTA – ácido etileno diaminotetracético a 3%).

Os leucócitos totais do LBA foram contados ao microscópio de luz (utilizando-se objetiva de 40 vezes) a partir de uma amostra diluída na proporção de 1:10 em corante Azul Tripan a 0,05%. Foi utilizada, para isto, uma câmara de Neubauer.

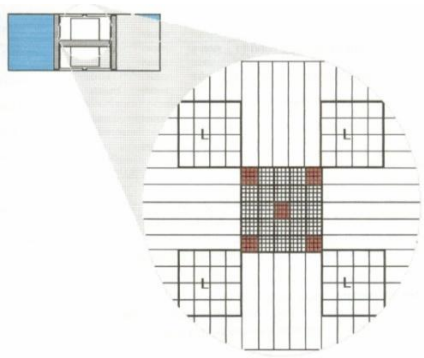


Figura 12. Hemocitômetro para contagem de leucócitos totais

Para contagem total dos leucócitos foi utilizada uma solução diluidora de leucócitos, solução de TURK (ácido acético a 3%). A solução de TURK possui a

propriedade de destruir os eritrócitos e corar o núcleo dos leucócitos. Os leucócitos foram contados em uma câmara de volume conhecido por Hemocitômetro ou Câmara de Neubauer (FIGURA 12) com auxílio do microscópio óptico em objetiva de imersão (40x). Em seguida, realizou-se a contagem de todos os leucócitos encontrados nos quadros marcados nas extremidades (L)

O resultado obtido utilizou a seguinte fórmula:

$$\textbf{Leucócitos /mm}^3\textbf{ de sangue} = \frac{\textbf{Lcx20x10}}{\textbf{4}}$$

Onde: Lc = número total de leucócitos contados em 4 de mm^2

4 = fator de conversão para 1 mm^3

20 = fator de conversão da diluição utilizada

10 = fator de conversão para 1 mm^3 (profundidade da lâmina)

3.9.2.2 Contagem diferencial de leucócitos

A contagem diferencial de leucócitos foi realizada utilizando-se a técnica de esfregaço sanguíneo. Esta técnica permite que os elementos celulares do sangue, espalhados em camada única sobre a superfície de uma lâmina, quando fixados e tratados por corantes especiais, adquiram morfologia e coloração adequadas para o estudo microscópico detalhado e preciso. Para isto, espalha-se uma pequena gota de sangue colocada sobre a superfície de uma das extremidades de uma lâmina e com o auxílio de outra, inclinada a 45º em relação à primeira, obtém-se o esfregaço sanguíneo.

Para a coloração utilizou-se o Kit Panótico Rápido LB – Laborclin Ltda. Este constitui um sistema de coloração diferencial dos elementos figurados do sangue, onde as estruturas celulares são coradas nos mais diversos nuances entre o vermelho e o azul, permitindo a identificação e a diferenciação entre elas. O kit consiste de uma solução fixadora e duas soluções corantes.

Depois de seca, a lâmina foi examinada ao microscópio óptico com objetiva de 100x por imersão. A leitura foi realizada no esfregaço sanguíneo pela contagem de 100

células. Os diferentes elementos foram contabilizados através da utilização de um contador eletrônico de marca Kacil com teclas correspondentes a cada tipo de célula. A partir dos dados obtidos foram calculados os valores absolutos e relativos para cada tipo de célula.

3.9.3 Análise da atividade dos macrófagos

3.9.3.1 Obtenção dos macrófagos do lavado bronco alveolar (LBA)

O pulmão é um dos órgãos que mais sofre as agressões de infecção, sendo assim, ele foi escolhido para as análises da resposta imunológica. O LBA foi obtido com a técnica usada por De C astro et al (1997) e Bureau et al (1997).

Ao final do período de treinamento (24 horas após a última sessão de exercício), todos os animais foram anestesiados (uretana a 10,5% e cloralase a 0,5%) para a realização da cirurgia de traqueostomia, em seguida foi inserida na traquéia uma cânula plástica acoplada a uma seringa contendo 5mL de solução fisiológica à temperatura ambiente . Várias alíquotas de solução fisiológica foram injetadas, aspiradas e o material coletado (FIGURA 13), o lavado bronco alveolar (LBA), foi depositado em tubo estéril.

O LBA recolhido foi centrifugado (FIGURAS 15 e 16). Ao final, obteve-se um volume de 20 mL de LBA de cada animal.

Figura 13. Obtenção dos macrófagos do lavado broncoalveolar (Traqueostomia)

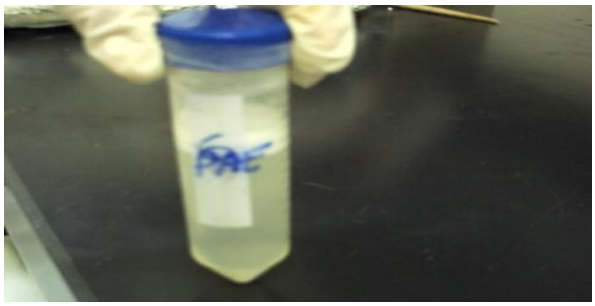


Figura 14. Lavado coletado

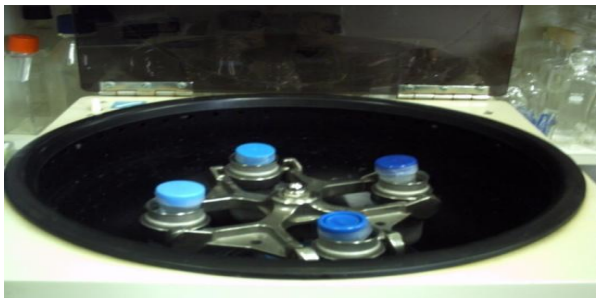


Figura 15. Centrifugação do lavado

Figura 16. Lavado centrifugado

3.9.3.2 Obtenção da cultura de macrófagos alveolares

O LBA foi centrifugado (10 min. a 470 x g) e as células recuperadas do precipitado (FIGURA 10). O precipitado de células obtido após centrifugação do LBA foi ressuspendido em meio de cultura (RPMI 1640, CULTILAB) suplementado com soro fetal bovino inativado a 3% (CULTILAB), penicilina-100U/mL, estreptomicina-100µg/mL e anfotericina B-0.25µg/mL (SIGMA) em uma densidade de $1x10^6$ células/mL. As células 1x10 células/mL/poço foram colocadas em placa, com 6 poços de 35 mm de diâmetro cada, para cultura de tecido (Placas tipo Falcon). Para adesão, as

células foram mantidas na placa por 1 h a 37ºC em atmosfera úmida contendo 5% de CO_2. As células não aderentes foram descartadas. Posteriormente, as células que aderiram foram incubadas por mais 1 h em meio de cultura (RPMI 1640, CULTILAB) com antibióticos e sem soro fetal bovino.

3.9.3.3 Taxa de fagocitose por macrófagos alveolares

Para avaliar a taxa de fagocitose foram utilizados fungos *Saccharomyces sp.* Os fungos foram lavados 3 vezes com Solução Salina Tamponada (SST), contados 10^7 células e em seguida, os fungos foram misturados na suspensão de macrófagos ($1x10^6$/1mL de meio de cultura RPMI 1640 completo) recuperados do LBA. As células (macrófagos e fungos) foram distribuídas em lâminas para microscopia óptica e incubados a 37ºC, em atmosfera úmida por um período de 1 hora. Após este período as lâminas foram lavadas com SST e secadas a temperatura ambiente. Para a coloração, foi utilizado o Kit Panótico Rápido. Depois de coradas e secas a temperatura ambiente, as lâminas foram levadas para leitura ao microscópio óptico com objetiva de 100x sob imersão. A taxa de fagocitose foi obtida como percentual de macrófagos que englobaram fungos em uma contagem total de 200 células.

3.9.3.4 Produção de óxido nítrico por macrófagos alveolares

Uma vez ocorrida a adesão celular na placa de cultivo, cada poço foi aspirado e lavado com 1 mL de solução salina a 0,9%. Neste momento as células foram estimuladas com LPS na dose de 10µg/mL. As placas de cultura retornaram à estufa para posteriores leituras em espectrofotômetro, com 24 e 48 horas.

- Construção da curva padrão:

Para efetuar a dosagem de óxido nítrico através da quantificação dos níveis de nitrato das amostras foi necessário realizar uma curva padrão (QUADRO 3). Para a construção desta foram utilizados reagentes a base da solução de nitrato de sódio ($NaNO_2$) 1mM (solução padrão), meio de cultura RPMI 1640 e reagente de Griess (solução de revelação) em volumes pré-estabelecidos conforme descrição a seguir. Quantidades crescentes da solução padrão foram adicionadas ao RPMI 1640 para se obter oito (08) soluções de diferentes concentrações.

Abaixo as quantidades pré-estabelecidas foram:

Tabela 4 – Construção da curva padrão para dosagem de óxido nítrico

Solução padrão de nitrito de sódio a 1mM(µL)	**Meio de cultura RPMI 1640(µL)**
0	**1000**
2	**998**
5	**995**
10	**990**
25	**975**
50	**950**
75	**925**
100	**900**

- Processo de revelação da curva padrão e das amostras:

A confecção da curva padrão ocorreu nos momentos das coletas das amostras, e as leituras tanto das amostras quanto da curva padrão foram efetuadas após o período de incubação de 24 horas.

Para o procedimento das leituras, em espectrofotômetro, utilizou-se um comprimento de onda de 550 nm. Em seguida, foram retirados 500µL de cada solução da curva padrão e a mesma quantidade de amostra dos sobrenadantes das culturas de células e misturadas a 500µL da solução de revelação, para então, após 10 minutos ser realizada a leitura. No grupo controle as células não receberam tratamento com o LPS. Neste grupo havia apenas 2mL de RPMI 1640 e 500 µL solução de revelação.

A determinação espectrofotométrica dos níveis de nitrito e nitrato da curva padrão, assim como daqueles liberados nas amostras experimentais foram registradas em absorvância. A partir da determinação dos valores da curva padrão foi possível converter

os valores de todas as amostras e assim determinar a quantidade de nitrito e nitrato liberados pelas células dos animais dos diferentes grupos.

3.10 Parâmetros bioquímicos

A partir do sangue coletado da extremidade da cauda do animal foram dosados três parâmetros bioquímicos do sangue: glicose, colesterol total e triglicerídeos. Foram utilizados tubos com anticoagulante fluoreto de sódio para dosagem de glicose e tubos sem anticoagulante para quantificação de colesterol e triglicerídeos. Após ser coletado, o sangue foi centrifugado para obtenção de soro necessário para as dosagens.

3.10.1 Glicose

Para a dosagem de glicose foi utilizado o método da glicose oxidase. Consiste em um sistema enzimático (Marca: Doles) para determinação da glicose no soro. A partir do reagente, glicose enzimática líquida, é produzida uma coloração avermelhada de intensidade proporcional à concentração de glicose no soro. A cor avermelhada, formada pela reação, foi medida em espectrofotômetro com absorção de 510 nm

3.10.2 Colesterol total

O colesterol foi quantificado através de determinação enzimática do colesterol total no soro (sistema enzimático líquido da marca Doles). A coloração vermelha produzida pela reação é diretamente proporcional à concentração de colesterol no soro. Para medir a coloração avermelhada foi utilizado espectrofotômetro com absorção de 510 nm.

3.10.3 Triglicerídeos

Utilizou-se sistema enzimático líquido da marca Doles, para determinação dos triglicerídeos no soro. A reação produz coloração avermelhada proporcional à concentração de triglicerídeos no soro. A intensidade da cor foi medida em espectrofotômetro com absorção de 510 nm.

3.11 Obtenção da gordura visceral

A coleta da gordura visceral foi realizada após a coleta da microbiota oral, com o animal anestesiado por mistura dos anestésicos cloralose e uretana, em concentrações respectivas de 0,5 e 12,5%, via intraperitonial, na proporção de 1mL/100g de peso corporal. Realizou-se uma incisão na região abdominal, todos os órgãos deste local foram retirados e a gordura separada para posterior pesagem.

3.11.1 Extração e metilação

As análises físico-químicas foram realizadas no Laboratório de Experimentação e Análise de Alimentos (LEAAL) do Departamento de Nutrição do Centro de Ciências da Saúde e a análise cromatográfica no Laboratório de Cromatografia Instrumental, ambos da Universidade Federal de Pernambuco.

Os extratos lipídicos obtidos foram esterificados e a análise cromatográfica realizada em cromatógrafo a gás modelo CG Master com detector de ionização de chama, com 22 minutos de corrida, tendo o hidrogênio como gás de arraste, numa vazão de 5 mL/min (HU e WILLETT, 2002). Para a identificação dos ácidos graxos foi utilizado o padrão de ésteres metílicos de ácidos graxos autênticos (MERCK-USA), comparando-se o tempo de retenção na coluna das amostras e do padrão. Os cromatogramas foram registrados em um software tipo Peaksimple (SRI Instruments-USA). A quantificação dos ácidos graxos foi determinada por normalização de área, expressando-se o resultado em percentual de cada ácido sobre o total de ácidos graxos A transformação da percentagem centesimal para g/100g de amostra foi feita multiplicando a área correspondente a cada ácido (%) pelo teor de gordura da dieta analisada, dividindo este resultado por 100. Todas as análises espectrofotométricas foram realizadas em duplicata (HU e WILLETT, 2002).

3.12 Análise estatística

Para a análise estatística os dados obtidos foram classificados através do teste de Kolmogorov-Smirnov como de distribuição normal (dados paramétricos) e não normal (dados não paramétricos).

Na comparação entre dois grupos (H e C), foi utilizado o teste t de *Student* para os dados paramétricos.

Para a comparação entre os diferentes grupos (H, HT, C, CT) foi empregada a análise de variância (ANOVA) seguido do teste de Tukey para os dados paramétricos. Para os dados não paramétricos foi utilizado o teste de Mann-Whytney para os dados não paramétricos.

Os resultados foram representados em média ± erro-padrão. A significância estatística foi considerada, admitindo-se um nível crítico de 5%.

4 RESULTADOS

Os resultados obtidos com o presente estudo encontram-se relatados em três artigos, apresentados a seguir:

ARTIGO 1: **Efeito da obesidade sobre a microbiota da cavidade oral de ratos (p. 72)**

ARTIGO 2: **Efeitos da dieta hiperlipídica em parâmetros antropometricos de ratos adultos treinados. (p.86)**

ARTIGO 3: **Avaliação do recrutamento e funções de células do sistema imune em ratos adultos obesos submetidos à natação. (p. 106)**

Efeito da obesidade sobre a microbiota da cavidade oral de ratos

Impact of obesity on the microbiota of the oral cavity of rat

Solange Maria Magalhães da Silva Porto[1],

Karla Melo Ferreira da Silva[2]

Rosangela Rosendo da Silva[3],

Bruno Sampaio[4],

Rafael Acioly[5],

Judith Advíncula Rocha[6],

Célia Maria Machado Barbosa de Castro[7].

[1,2,3] Doutoranda em Nutrição, Centro de Ciências da Saúde – Universidade Federal de Pernambuco.

[4] Mestrando em Medicina Tropical, Centro de Ciências da Saúde – Universidade Federal de Pernambuco.

[5] Estagiário de Iniciação Científica, Graduando de Biomedicina, Centro de Ciências Biológicas – Universidade Federal de Pernambuco.

[6] Estagiária de Iniciação Científica, Graduanda de Enfermagem, Centro de Ciências da Saúde – Universidade Federal de Pernambuco.

[7] Professor Adjunto da Disciplina de Microbiologia e Imunologia, Depto. de Medicina Tropical, Centro de Ciências da Saúde – Universidade Federal de Pernambuco.

Correspondência para: Célia Mª. M. B. de Castro, Departamento de Medicina Tropical, Cidade Universitária, 50670-901 Recife, PE, Brasil Tel.: +55 81 32718486 – ext. 27, Fax: +55 81 32718485

E-mail: solangemporto@ibest.com.br

INTRODUÇÃO

A etiologia da obesidade é multifatorial e está se tornando um problema de saúde pública, devido ao aumento da sua prevalência e à conseqüente repercussão das suas comorbidades [1].

A crescente prevalência da obesidade em todo o mundo indica que aspectos ambientais e comportamentais desempenham um importante papel como fatores causais. As influências ambientais são várias, o percentual de gordura presente na dieta diária e a falta de atividade física são dois fatores importantes [2].

A exposição de dieta hiperlipídica por um período prolongado resulta em balanço energético positivo e obesidade em modelos experimentais com roedores, que podem ser considerados um adequado modelo de obesidade em humanos [3,4].

Ratos alimentados com dieta hiperlipídica têm sido muito usados como modelo experimental para o estudo da obesidade e do gasto energético [5]. Nestes estudos, vários alimentos ricos em energia são oferecidos ao animal, os quais podem resultar em aumento do peso corporal e adiposidade, mas ocasionalmente esta conseqüência é controversa [6].

A obesidade caracteriza-se por gerar prejuízos no estado normal do organismo, modificando completamente algumas das funções vitais, dentre elas o sistema imune [7], cuja deficiência é acompanhada por um aumento da taxa de infecções [8, 9].

A enorme variedade de organismos que causam doenças infecciosas pode ser agrupada em seis categorias principais: vírus, bactérias, fungos, protozoários, helmintos e artrópodes. Cada uma destas categorias apresenta características distintas que determinam maneiras de interação com os hospedeiros e, portanto, contribuem para as características das doenças que os organismos causam[10].

Algumas espécies, entretanto, são positivamente benéficas à saúde do hospedeiro e fazem parte da imunidade inata. A microbiota normal, os organismos que vivem no nosso corpo sem causar doença, é imprescindível para a proteção contra o estabelecimento de micróbios patogênicos [11].

A microbiota endógena inclui todos os microrganismos (bactérias, fungos, protozoários e vírus) que residem no interior ou na superfície corporal dos seres sadios [12]. Quando o número habitual de microrganismos residentes está muito reduzido, os invasores oportunistas podem então, se estabelecer mais facilmente [13].

A cavidade oral, por exemplo, apresenta uma das mais concentradas e variadas populações microbianas, cuja localização principal está no dorso da língua, no sulco gengival e na placa dental coronariana [14]. Estima-se que a saliva contém 10^8 bactérias/mL e as placas dentais, 10^{11} bactérias/mL [15].

Assim, o presente estudo pretende avaliar experimentalmente o efeito da obesidade sobre a microbiota da cavidade oral de ratos. O estudo destes aspectos tem importância do ponto de vista experimental e clínico, devido à diversidade de reações do organismo, particularmente às eventuais seqüelas sobre os mecanismos de defesa orgânicos ocasionadas por modificações nutricionais sofridas nas últimas décadas, cujos alimentos contêm elevado conteúdo de gorduras e calorias, estimulam o consumo, conduzindo à obesidade.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais

Foram utilizados 20 ratos machos, albinos, da linhagem *Wistar*, provenientes da colônia do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco. Os animais foram mantidos em biotério, a uma temperatura de 23 ± 1 ^oC, em ciclo claro/escuro de 12 h (claro-7 às 19 h; escuro- 19 às 7 h), onde tiveram livre acesso a água e ração.

Os animais foram obtidos acasalando-se machos e fêmeas adultos, na proporção de um macho para três fêmeas, por um período de 16 dias [16].

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal do centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco e seguiu as normas sugeridas pelo Comitê Brasileiro de Experimentação Animal.

Grupos Experimentais

Após o desmame, no 22º dia de vida, as ninhadas foram divididas em dois grupos segundo regime dietético empregado: Grupo Obeso - constituído por 10 animais submetidos ao consumo de dieta hipercalórica e hiperlipídica - e o Grupo Controle - constituído por 10 animais alimentados com dieta utilizada como padrão pelo biotério, Labina- Purina do Brasil S/A.

Peso corporal

O peso corporal de todos os animais foi aferido diariamente do primeiro dia de vida até o final do período de aleitamento (21 dias), a fim de identificar possíveis anormalidades de peso corporal antes da imposição das dietas. Após o desmame até o final da administração das dietas, a pesagem foi realizada em dias alternados.

Dieta Hipercalórica e Hiperlipídica

A dieta obesogênica empregada consiste em uma mistura hipercalórica (normoprotéica e hiperlipídica) previamente descrita e utilizada por Estadella[17] e Duarte[18]. É composta por ração comercial LABINA®, amendoim torrado, chocolate ao leite e biscoito maisena, na proporção 3:2:2:1. A densidade calórica encontrada para a dieta de cafeteria foi de 4,8 kcal/100g (24,5% de Lipídeos), enquanto que a dieta padrão apresentou 2,7 kcal/100g (4% de Lipídeos).

Microbiota oral

Coleta de material para cultura

Realizou-se coleta da cavidade oral de todos os animais após as 18 semanas de administração das dietas. Cada animal foi segurado na posição vertical de modo que suas patas fossem imobilizadas. A flora bacteriana oral foi coletada através de *swabs* estéreis embebidos em 40 μl de solução salina de NaCl 0,9%, estéril.

Análise bacteriológica

Após a coleta, cada *swab* foi depositado em tubo estéril contendo 960 l de meio de cultura BHI (Brain Heart Infusion), meio líquido enriquecido que permite o crescimento bacteriano. Posteriormente, fazia-se a homogeneização de cada uma destas amostras. Então, retirava-se 1µl com o auxílio de alça calibrada que era semeada em placas de Petri contendo Agar-sangue e Agar-Levine, para isolamento e identificação das bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, respectivamente. Estas placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 37^0C por 48 horas. As bactérias que cresceram foram isoladas e, posteriormente, prepararam-se lâminas para a realização da coloração de Gram e a partir do resultado foram realizados testes específicos. As unidades formadoras de colônias (UFC) foram contadas e seus percentuais calculados.

Obtenção da gordura visceral

A coleta da gordura visceral foi realizada após a coleta da microbiota oral, com o animal anestesiado por mistura dos anestésicos cloralose e uretana, em concentrações respectivas de 0,5 e 12,5%, via intraperitonial, na proporção de 1mL/100g de peso corporal. Realizou-se uma incisão na região abdominal, todos os órgãos deste local foram retirados e a gordura separada para posterior pesagem.

Análise estatística

Na comparação entre os grupos, foi utilizado o teste t de Student para os dados paramétricos e o teste de Mann-Whytney para os dados não paramétricos. Os resultados foram representados em média ± erro-padrão. A significância foi definida para $p<0,05$.

RESULTADOS

Peso corporal

A parir do início da administração das dietas até as 18 semanas subseqüentes, o peso corporal dos animais que receberam dieta hiperlipídica não apresentou diferença significativa em relação aos que se alimentaram de dieta padrão (Figura 1).

Gordura Visceral

A gordura visceral do grupo obeso apresentou peso estatisticamente maior em relação ao grupo controle (Figura 2).

Microbiota oral

Após análise do material coletado dos ratos, nos dois grupos, observou-se que a flora oral era composta por menor número de bactérias no grupo obeso, quando comparado ao grupo que consumiu dieta padrão, porém esta diferença não foi estatisticamente significante (Figura 3).

O grupo obeso apenas não apresentou a bactéria *Corynebacterium sp*, em relação ao grupo controle, porém ocorreu o crescimento bactérias não encontradas no controle: *Streptococcus* do grupo B, *Streptococcus* do grupo D não *enterococcus e Streptococcus* do grupo D *enterococcus*. Em ambos os grupos, houve crescimento apenas de um tipo de bactéria Gram negativa, enquanto todas as outras foram Gram positivas (Tabelas 1 e 2).

DISCUSSÃO

No presente estudo, adotou-se para indução da obesidade uma dieta hiperlipídica e hipercalórica imposta após o aleitamento, com as avaliações sendo realizadas aos 145 dias de vida do animal. Assim, nesse estudo, o consumo contínuo desta dieta não causou aumento significativo no peso corpóreo, quando comparado ao grupo controle. Estes dados corroboram com os de Eguchi[19,] ao utilizar a dieta de cafeteria por oito semanas. Estes resultados também estão em concordância àqueles de Estadedella et al[17]; Gaíva[4]; Schrauwen e Westerterp[20], os quais verificaram que não houve prevalência ponderal em animais de até 145 dias de idade, verificando equivalência ponderal intergrupos.

Os estudos relacionados à obesidade precoce são escassos, sobretudo aqueles que avaliam os efeitos crônicos do consumo por mais de 15 semanas de alimentos hiperlipídicos, resultados referentes ao peso corporal de ratos mantidos sob dieta hipercalórica são conflitantes na literatura. As diferenças encontradas podem ser devidas tanto ao tempo de consumo utilizado quanto à composição calórica.

Apesar de não aumentar o peso corporal, a dieta cafeteria utilizada causou maior adiposidade da região visceral, confirmando que a dieta é útil em induzir obesidade por fator exógeno em ratos, uma vez que a organização mundial de saúde[21] define obesidade como anormal ou excessiva acumulação de gordura, apresentando risco para a saúde.

Então, mesmo com a manutenção de peso corporal, diversos estudos têm empregado a dieta hiperlipídica, que também é hipercalórica, em todos os seus constituintes, como modelo experimental de indução da obesidade, uma vez que a quantidade de gordura corporal é conhecidamente aumentada por esta dieta.

É sabido que a manipulação nutricional pode alterar o funcionamento de diversos sistemas. A microbiota oral, por sua vez, é conhecida por sofrer alterações significativas decorrente de modificações sofridas nos fatores externos, ou aqueles relacionados ao hospedeiro e ou às bactérias [12, 14, 15, 22, 23, 24, 25].

Portanto, em conseqüência a estas alterações, pode ocorrer um desequilíbrio entre esta microbiota e o hospedeiro, tal fato predispõe a instalação de processos inflamatórios e/ou infecciosos. Vários autores afirmam que são vários os fatores que contribuem para mudanças na composição da microbiota como: determinadas características genéticas e raciais, idade, maturidade do sistema imune, dieta, puberdade, erupção dos dentes decíduos e permanentes, higiene oral, cárie, enfermidade periodontal ou infecção, diminuição do fluxo salivar e uso de medicações [24, 26, 27, 28, 29, 30, 31].

Os resultados obtidos por Porto[32], na análise da cavidade oral de ratos, revelaram que o grupo submetido à desnutrição precoce no período de aleitamento, apresentou uma microbiota com maior número de bactérias, quando comparado ao grupo controle.

Os resultados mostram que uma manipulação nutricional anormal, ou na desnutrição ou na obesidade, leva a uma alteração quantitativa e, algumas vezes, qualitativa das bactérias da microbiota. A análise da microbiota oral obtida da cavidade oral dos animais que participaram deste estudo, revelou que o grupo obeso apresentou redução do número de bactérias quando comparado ao grupo Controle. Este fato altera a relação bactéria hospedeiro e propicia o alojamento de microrganismos patógenos, contribuindo para

instalação de um processo infeccioso, podendo este apresentar-se mais grave devido à imunidade comprometida dos obesos.

Além da alteração quantitativa de bactérias da microbiota, outro fator importante é a modificação do padrão destas bactérias, ou seja, a alteração da distribuição dos diversos gêneros encontrados. A ausência de bactérias encontradas na microbiota do grupo controle e, principalmente, a presença de bactérias estranhas a este grupo, revelam mudanças na microbiota dos obesos. Estas mudanças por sua vez, podem significar um prejuízo adicional causado pelo excesso de gordura ou, por outro lado, uma resposta compensatória à redução do quantitativo de bactérias.

Já em relação ao quantitativo de bactérias Gram negativas, os resultados indicam que a obesidade não é capaz de alterar este parâmetro, uma vez que foi encontrado apenas um tipo de bactéria Gram negativa tanto no grupo controle quanto no obeso, o que perfaz 16,5% no primeiro e 12,5% no segundo grupo. Estes dados são concordantes com estudos de Koller[25], que referem até 80% de bactérias gram-positivas na microbiota normal da cavidade oral.

De acordo com Trabulsi[33] a microbiota da cavidade oral é muito diversificada e estima-se que a saliva contém em torno de 10^8 bactérias/mL. Contudo, no presente estudo, os resultados encontrados sobre o crescimento bacteriano foram menores, na ordem de 10^6/mL e este achado, provavelmente pode ser explicado pelo fato de não ter sido incluída a pesquisa de bactérias anaeróbias.

CONCLUSÃO

A obesidade imposta por consumo de dieta hiperlipídica e hipercalórica a partir do desmame até os 145 dias de vida do animal altera o padrão e o crescimento da microbiota oral de ratos, porém, não interfere na qualidade, prevalecendo eventos referentes às bactérias Gram-positivas, o que segundo a literatura, facilita a penetração de microrganismos patogênicos.

REFERÊNCIAS

1. DIEMEN, V.V. TRINDADE, E.N. TRINDADE, M.R.M. Experimental model to induce obesity in rats. **Acta Cir Bras**, v. 21, n. 6, p. 425-429, 2006.

2. JEQUIER, E. Pathways to obesity. **Int J Obes Relat Metab Disord**, v. 26, n. 12, p. 322, 2006.

3. LIN, S. et al. Development of high fat dietinduced obesity and leptin resistance in C57Bl/6J mice. **Int J Obes Relat Metab Disord,** v. 24, p. 639, 2000.

4. GAÍVA, M.H.G.; COUTO, R.C.; OYAMA, L.M. Polyunsaturated fatty acid-rich diets: effect on adipose tissue metabolism in rats**. Br J Nutr**, v. 86, p. 371, 2001.

5. COATMELLEC-TAGLIONI, G.; DAUSSE, J.P.; RIBIE`RE, C.; GIUDICELLI, Y. Hypertension in cafeteria-fed rats: alterations in renal a2-adrenoceptor subtypes. **Am J Hypertens,** v. 13, p. 529-534, 2000.

6. HILL, J.O. et al. Development of dietary obesity in rats: influence of amount and composition of dietary fat. **Int J Obes Relat Metab Disord**, v. 16, p. 321-333, 1992.

7. CONWAY, B.; RENÉ, A. Obesity as a disease: no lightweight matter. **Obes Ver**, v. 5, n. 3, p. 145-151, 2004.

8. KHAN, L.K.; BOWMAN, B.A. Obesity: a major global public health problem. **Annu Rev Nutr**, v. 19, p. 13-17, 1999.

9. PI-SUNYER, F.X. et al. Obesity-A modern-day epidemic. **J Clin Endocrin**, v. 84, p. 3-5, 1999.

10. LAWRENCE, C.M.; DENNIS, L.K. Introdução às doenças infecciosas: interações hospedeiro-patógeno. In: KASPER, D.L. et al. **Medicina interna.** 16. ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill Interamericana do Brasil, 2006. p. 423-455

11. MANDELL, G.L.; et al. **Principles and practice of infectious diseases**. 5. ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2005, p. 2242.

12. PASTER, B.J. Bacterial diversity in human subgingival plaque. **J. Bacteriol**, v. 183, n. 1, p. 3770-3783, 2001.

13. BURTON, G.R.W.; ENGELKIRK, P.G. **Microbiologia: para as ciências da saúde**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005, p. 353.

14. LINDHE, J. **Tratado Perodontologia Clínica**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.88-106, 1992.

15. GUTIERREZ-PEREZ, J.L. Infecciones orofaciales de origem odontogênico. **Méd. Oral**, v. 9, n. 1, p.280-287, 2004.

16. HARKNESS, J.E. **Biologia clínica de coelhos e roedores**. São Paulo: Roca, p.9-

55, 1993.

17. ESTADELLA, D. et al. Effect of Palatable Hyperlipidic Diet on Lipid Metabolism of Sedentary and Exercised Rats. **Basic nutri invest**, v. 20, p. 218-224, 2004.

18. DUARTE, A.C.G.O. et al. Dieta hiperlipídica e capacidade secretória de insulina em ratos. **Rev Nutr**, v. 19, n. 3, p. 341-348, 2006.

19. EGUCHI, R. et al. Efeitos do Exercício Crônico Sobre a Concentração Circulante da Leptina e Grelina em Ratos com Obesidade Induzida por Dieta. **Rev Bras Med Esporte**, v. 14, n. 3, p. 73, 2008.

20. SCHRAUWEN, P.; WESTERTERP, K.R. The role of high-fat diets and physical activity in the regulation of body weight. **Br J Nutr**, v. 84, n. 4, p. 417-427, 2000.

21. WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Overweight and obesity - a new nutrition emergency? Introduction, **SCN News,** n. 29, p. 3-4, 2005.

22. TOTTI, M.A.G. Recuperação de *Candida Albicans*, *C. Tropicalis*, *C. Guilliermondii* e *C. Krusei* na cavidade bucal de ratos normais e sialoadenectomizados. **Rev Odonto**. v. 25, n. 1, p. 119-124, 1996.

23. KOLLER, M.M. Desipramine changes salivary gland function, oral microbiota, and oral health in rats. **Europ Jour of Pharmacol**, v. 408, n. 1, p. 91-98, 2000.

24. DARBY, I.; CURTIS, M. Microbiology of periodontal disease in children and young adults. **Periodontology**, v. 26, n. 1, p. 33-53, 2001.

25. SOCRANSKY, S.S.; HAFFAJEE, A.D. Periodontal microbial ecology. **Periodontology**, v. 38, n. 1, p. 135-187, 2000.

26. SWARTZ, M.N.; GIBBONS, R.; SOCRANSKY, S. Bacterias endógenas. Microbiología oral. In: DAVIS, B. D. et al. **Tratado de Microbiologia**. 4. ed. Barcelona: Masson 1996. p. 697-705.

27. MARCOTTE, H.; LAVOIE, M.C. Oral microbial ecology and the role of salivary immunoglobulin A. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 62, n. 1, p. 71-109, 1998.

28. TORTORA, G.J.; FUNKE, B.R.; CASE, C.L. **Microbiologia**. 6. ed. Porto Alegre: Artes Médicas Sul, 2000, p. 394-420.

29. RODRIGUES, A.M.; NEWMAN, M.G. Microbiologia e imunologia periodontal. In: CARDOSO, R. J.A.; Gonçalves, E.A.N. **Periodontia/Cirurgia/Cirurgia para implantes**. São Paulo: Artes Médicas 2002, p. 21-50.

30. YAO, E.S.; LAMONT, R.J.; LEU, S.P. Interbacterial binding among strains of pathogenic and commensal oral bacterial species. **Oral Microbiology and Immunology**, v. 6, n. l, p. 11-35, 1996.

31. CHOW, A.W. Infections of the oral cavity, neck, and head. In: MANDELL, G.L.; BENNETT, J.E.; DOLIN, R. **Principles and Practice of Infectious diseases**. 5. ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2000. p. 689-701.

32. PORTO, S.M.M.S et al. Desnutriçao neonatal e microbiota normal da cavidade oral em ratos. **Rev. Nutr**, v. 20, n. 6, p. 625-632, 2007.

33. TRABULSI, L.R.; DE TOLEDO, M.R.F.; SILVA, N.P. **Microbiologia.** 1 ed. São Paulo: Atheneu, 1986. p. 17-19.

RESUMO

OBJETIVO: Analisar a influência do consumo de uma dieta hipercalórica e hiperlipídica sobre o ganho de peso corporal, adiposidade visceral, padrão e crescimento de bactérias da microbiota da cavidade oral de ratos. **MÉTODOS:** Após o desmame, 20 ratos machos foram divididos em 2 grupos: grupo obeso, n=10, animais submetidos à dieta hiperlipídica e hipercalórica, e grupo controle, n=10, animais alimentados com dieta padrão do biotério, Labina. Cada grupo consumiu suas dietas durante 18 semanas. Vinte e quatro horas após o término do período de consumo das dietas realizou-se coleta para análise da microbiota oral, através de *swabs* estéreis. Foi realizada cultura para isolamento e identificação das bactérias, além da contagem das unidades formadoras de colônias. Após a coleta da cavidade oral, a gordura da região visceral foi retirada e pesada. **RESULTADOS:** A dieta hiperlipídica e hipercalórica utilizada não causou aumento de peso corporal, porém, levou a um aumento significante de gordura visceral. Observou-se que a flora oral dos obesos tendeu a uma diminuição do número de bactérias, e esta redução foi estatisticamente significante. A obesidade alterou o padrão das bactérias encontradas na cavidade oral, modificando a freqüência de alguns micro-organismos e levando ao aparecimento de bactérias não encontradas nos animais controles. **CONCLUSÃO:** A ingestão de dieta hiperlipídica e hipercalórica por 18 semanas pode ser capaz de alterar o padrão da microbiota da cavidade oral, modificando assim, a relação dos micro-organismos ali existentes, o que facilita a entrada e a permanência de micróbios patogênicos, podendo promover uma possível infecção.

PALAVRAS-CHAVE: microbiota; cavidade oral; dieta hiperlipídica e hipercalórica; obesidade; ratos.

ABSTRACT

PURPOSE: To analyze the influence of continued consumption of a high calorie and high fat diet on body weight gain, visceral adiposity, and growth pattern of bacteria from the oral cavity of adult rats. **METHODS:** After weaning, 20 male rats were divided into two groups: obese (OG), n = 10 animals subjected to calorie and fat diet and control group (CG) n = 10, animals fed a standard diet of vivarium, Labina. Each group consumed their respective diets for 18 weeks. Twenty-four hours after the period of consumption of diets, there was collected for analysis of the microflora of the oral cavity, using sterile swabs. Were performed culture for isolation and identification of bacteria, in addition to counting colony forming units. After collecting the oral cavity, the visceral fat area was removed and weighed. **RESULTS:** The high calorie and high fat diet used did not cause weight gain, however, led to a statistically significant increase of visceral fat. After data analysis showed that the oral flora of obese tended to decrease in the number of bacteria, and this reduction was statistically significant. Obesity has changed the pattern of the bacteria found in the oral cavity, modifying the frequency of some micro-organisms and leading to the appearance of some bacteria not found in animals that received diet normocaloric. **CONCLUSION:** The continued ingestion of high calorie and high fat diet for 18 weeks may be able to change the pattern of the microflora of the oral cavity, thus altering the ratio of micro-organisms that exist there, which facilitates the entry and residence of pathogenic microbes, which can promote a possible infection.

KEY-WORDS: microbial; oral cavity; high calorie and high fat diet; obesity; rats.

FIGURAS

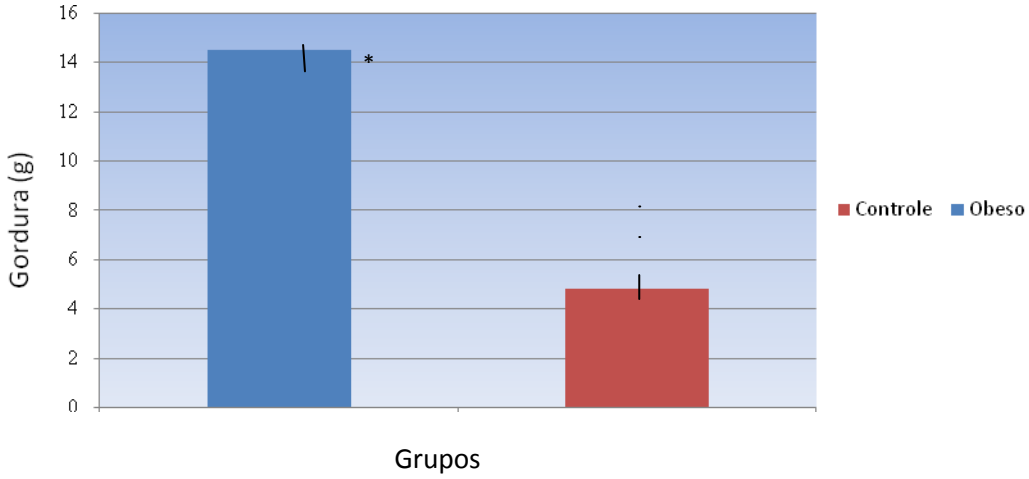


Figura 1. Quantidade de gordura visceral encontrada nos grupos obeso e controle, Recife, 2010.

Valores apresentados em média ± erro padrão.

* significa diferença estatísticamente significante

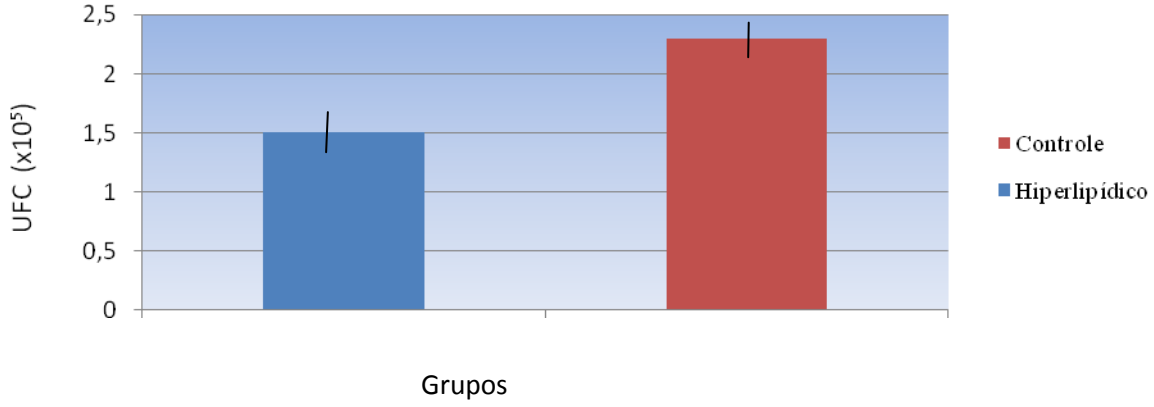


Figura 2. Unidades formadoras de colônias encontradas nos grupos hiperlípidico e controle, Recife, 2010.

Valores apresentados em média ± erro padrão

TABELAS

BACTÉRIAS ENCONTRADAS	CASOS
GRAM +	
Bcillus sp	9
Staphilococcus aureus	9
Streptococcus saprophyticcus	4
Streptococcus do grupo viridans	3
Streptococcus do grupoB	2
Streptococcus do grupo D não *enterococcus*	1
Streptococcus do grupo D *enterococcus*	1
GRAM -	
Escherichia coli	1

Tabela 2. Diferentes bactérias e o número de casos nos 10 animais do grupo controle, Recife, 2010.

BACTÉRIAS ENCONTRADAS	CASOS
G RAM +	
Staphilococcus aureus	10
B Bacillus sp	8
Streptococcus do grupo viridans	8
Corynebacterium sp	2
Streptococcus saprophyticcus	1
GRAM -	
Escherichia coli	1

Artigo 2: EFEITOS DA DIETA HIPERLIPÍDICA EM PARÂMETROS ANTROPOMETRICOS DE RATOS ADULTOS TREINADOS

Solange Maria Magalhães da Silva Porto[1]

Karla Melo Ferreira da Silva[2]

Rosangela Rosendo da Silva[3]

Sebastião Camilo de Melo Filho [4],

Alexandre Ricardo Pereira Schuler[5],

Nonete Barbosa Guerra[6],

Célia Maria Machado Barbosa de Castro[7].

[1/2/3] Doutorandas em Nutrição, Depto. de Nutrição, Centro de Ciências da Saúde – Universidade Federal de Pernambuco – UFPE.

[4] Engenheiro Químico do Laboratório de Experimentação e Análise de Alimentos – LEAAL – Universidade Federal de Pernambuco – UFPE.

[5] Professor do Departamento de Engenharia Química, Laboratório de Cromatografia Instrumental – Universidade Federal de Pernambuco – UFPE.

[6] Professora do Departamento de Nutrição, Laboratório de Experimentação e Análise de Alimentos – LEAAL– Universidade Federal de Pernambuco – UFPE.

[7] Professora Adjunto da Disciplina de Microbiologia e Imunologia, Depto. de Medicina Tropical, Centro de Ciências da Saúde – Universidade Federal de Pernambuco – UFPE.

Correspondência para: Célia Mª. M. B. de Castro, Departamento de Medicina Tropical, Cidade Universitária, 50670-901 Recife, PE, Brasil Tel.: +55 81 32718486 – ext. 27, Fax: +55 81 32718485

E-mail: solangemporto@ibest.com.br

RESUMO

OBJETIVO: Neste estudo, foram verificados os efeitos da administração crônica de uma dieta hiperlipidica palatável, para dados antropométricos: ganho de peso corporal e adiposidade, como para dados bioquímicos: glicose sanguínea, triglicerídeo e colesterol, em ratos adultos sedentários e treinados. **MÉTODOS:** Utilizaram-se 40 ratos machos, albinos, da linhagem *Wistar*, mantidos em gaiolas individuais, em ciclo claro/escuro de 12 horas, sob condições padronizadas. Após o desmame, os animais foram divididos em dois grupos: grupo controle (C) e grupo hiperlipídico (H). A administração de dieta hiperlipídica foi introduzida a partir do desmame enquanto o grupo controle foi alimentado com dieta padrão, Labina, durante 18 semanas. Peso corporal e consumo de ração foram avaliados diariamente. Aos 90 dias de vida, metade dos animais de cada grupo foi submetida a treinamento físico moderado (TFM) com natação, constituindo-se os grupos: Controle (C); Controle Treino (CT); Hiperlipidico (H) e Hiperlipidico Treino (HT). Os animais treinados foram submetidos a um programa de natação (8 semanas/5dias/semana;45 min/dia), com aumento progressivo da carga conforme o peso corporal, até atingir um máximo de 4%. Vinte e quatro horas após o último treino coletou-se sangue (0,5mL) da cauda dos animais para análise bioquímica. A dieta foi analisada por cromatografia. **RESULTADOS:** a dieta hiperlipídica utilizada não causou aumento de peso corporal, porém, levou a um aumento de gordura visceral no grupo hiperlipídico. Após analise da dieta hiperlipidica foram encontrados maiores valores de ácidos graxos insaturados. Em animais treinados e alimentados com dieta hiperlipídica a associação com o treinamento físico, não foi eficaz para reduzir os níveis de triglicerídeos séricos. **CONCLUSÃO**: A ingestão continuada da dieta hiperlipídica palatável por 18 semanas foi capaz de induzir em ratos, obesidade central (RET) e visceral (EPI). O treinamento físico moderado por sua vez pode reduzir a quantidade do tecido adiposo central e visceral. Para o controle da obesidade exógena, a prática de exercícios físicos, considerando a intensidade, a freqüência e a duração do treino, associados a uma dieta balanceada, parece promover a manutenção do peso corporal, diminuindo a adiposidade, o percentual de gordura central, melhorando o perfil lipídico, combatendo assim, os efeitos deletérios da obesidade.

Palavras-chave: Dieta Hiperlipdica, Treinamento Físico Moderado, Ácidos Graxos e Ratos.

ABSTRACT

OBJECTIVE: This study observed the effects of chronic administration of a palatable diet on body weight gain, adiposity and blood levels of glucose, triglyceride and cholesterol in rats trained and untrained adults. **METHODS:** We used 40 male rats, albino *Wistar* kept in individual cages in light / dark cycle of 12 hours under standard conditions. After weaning, the animals were divided into two groups: control (C) group and Lipids (L). The administration of fat diet was introduced from weaning, while the control group was fed a standard diet, Labina for 18 weeks. Body weight and food intake were recorded daily. At 90 days old, half the animals in each group was subjected to physical training (MPT) with swimming, constituting groups: control (C) Control Training (CT) Lipids (L) and Lipids Training (LT). Trained animals were submitted to a swimming program (8 weeks/5days/week, 45 min / day), progressively increasing the load as body weight, up to a maximum of 4%. Twenty-four hours after the last training session was collected blood (0.5 mL) in the tail of animals for biochemical analysis. **RESULTS**: A high fat diet used did not cause weight gain, however, led to an increase in visceral fat group in lipids. Between the two samples were found higher values of unsaturated fatty acids. In trained animals fed high fat diets and the association with physical training was not effective in reducing levels of triglycerides. **CONCLUSION**: The continuous intake of palatable diet for 18 weeks is able to induce in rats, central obesity (RET) and visceral (EPI). The moderate physical training in turn may reduce the amount of central adipose tissue and visceral. For the control of exogenous obesity, the practice of physical exercises, considering the intensity, frequency and duration of training, coupled with a balanced diet seems to promote the maintenance of body weight, decreasing body fat, percentage of central fat, improved lipid profile, thus countering the deleterious effects of obesity.

Key-words: High fat diet, Moderate Physical Training, Fatty Acids and Mice.

INTRODUÇÃO

A obesidade tem se tornado um problema de saúde pública e está fortemente associada a diversas doenças crônicas não transmissíveis, como hiperlipidemia, hipertensão arterial, resistência insulínica, dislipidemias, diabetes mellitus, entre outras[1,2]. A maior parte dessas doenças está relacionada com o aumento da adiposidade visceral[3,4], sendo as principais causas desse acúmulo a ingestão excessiva de gordura e o sedentarismo[5,6]

.Dietas hipercalóricas têm sido utilizadas com sucesso para a reprodução de modelos experimentais de obesidade[1]. A ingestão elevada de lipídios pode levar ao aparecimento de obesidade e outras doenças associadas[6]. O tipo de gordura da dieta influencia funções metabólicas e leva a mudanças no peso e/ou na composição corporal ainda que não haja ingestão hiperenergética[5]. Entretanto, na literatura científica são encontradas muitas controvérsias em relação à composição lipídica da dieta e o ganho de peso[3].

Grande parte dos lipídios é ingerida na forma de triglicerídeos que compreendem uma molécula de glicerol mais três de ácidos graxos ligados a ele. A composição desses ácidos graxos caracteriza os triglicerói[7]. Os ácidos graxos apresentam em suas extremidades grupamentos funcionais carboxila (COOH) e metil (CH3), ligados a uma cadeia carbônica, a qual pode variar conforme o número de insaturações em: Saturados, Monoinsaturados e Poliinsaturados; e ainda, quanto ao comprimento da cadeia em: curta, média e longa[8].

Variações no comprimento, insaturações e arranjo estrutural, conferem aos ácidos graxos diferentes propriedades físicas, químicas e biológicas[7]. Dentre os ácidos graxos que compõem os triglicerídeos, os Poliinsaturados (PUFAs), classificados por terem duas ou mais insaturações, estão presentes nos óleos vegetais. Entretanto, mais de 95% dos óleos comestíveis são constituídos por triacilglicerídeos, além desses, os óleos podem conter outros componentes como: mono e diglicerídeos, ácidos graxos livres, tocoferol, esteróis e vitaminas lipossolúveis[9].

Os ácidos graxos mais comuns nos alimentos apresentam número par de átomos de Carbono (C), de 12 a 22 C. Nos alimentos preparados há também ácidos graxos mais curtos, mais compridos e com número ímpar de Carbono[10]. Os ácidos graxos saturados são encontrados, predominantemente, em alimentos de origem animal como: carne, ovos, queijo, leite e manteiga, e nos de origem vegetal, como: óleos de côco e dendê, além dos produtos vegetais hidrogenados[10]. Exemplificando, tem-se ácidos graxos Caprílico (C8:0) e Cáprico (C10:0), presentes em óleos de côco e dendê; o Palmítico (C16:0) e o Esteárico, encontrado nas gorduras[11].

O ácido graxo Oléico (C18:1) é o mais comum ácido graxo monoinsaturado (MUFA) presente na maioria das gorduras animais: aves, carne bovina e cordeiro, e, também em azeitonas, sementes e nozes[10]. Os PUFAs são classificados nas séries ômega 9 (n-9), ômega 6 (n-6) e ômega 3 (n-3). A diferença entre eles está na posição da primeira dupla ligação. O ácido Linoléico (C18:2) é expoente da série (n-6) e está presente nos óleos vegetais como: óleo de girassol, milho, soja, algodão, etc[10]. O Ácido Linolênico (C18:3) da família n-3, muito encontrado em sementes oleaginosas como: canola, soja e linhaça[10].

Nos vegetais como: algas, microalgas e fitoplancton e em animais de origem marinha, como: peixes e crustáceos há outros ácidos graxos que apresentam maior número maior de número de carbono e com maior quantidade de duplas ligações, os quais pertencem à série n-3, como: Ácido Eicosapentaenóico (EPA, C20:5) e o Ácido Docosahexaenóico (DHA, C22:6)[12]. A formação desses PUFAs n-3, pelas algas marinhas, e sua transferência da cadeia alimentar aos peixes, favorecem sua abundância em óleos de peixe de origem marinha[12]

Em ratos submetidos à dieta hiperlipídica a partir de três semanas, ocorre aumento na quantidade do tecido adiposo retroperitoneal (RET) e epididimal (EPI). Dietas com quantidades elevadas de Ácidos Graxos Saturados (AGS) promovem maior acúmulo de gordura, quando comparadas àquelas ricas em Ácidos Graxos MUFAs e PUFAs. Alguns estudos relacionam os PUFAS com maior ganho de peso e indução de obesidade em hamsters e ratos, quando comparados com consumo de AGS[3,4].

Os PUFAS têm sido relacionados com efeitos hipotrigliceridêmicos, os quais se devem à redução da atividade de enzimas ligadas à síntese de acidos graxos, tais como: ácido graxo sintase, glicose-6-fosfato desidrogenase e lipase triacilglicerol e aumento da atividade da enzima carnitina palmitoil transferase, relacionada com a oxidação de ácidos graxos[3,4].

A relação entre exercício e saúde vem se consolidando nos últimos anos. Estudos clínicos, de ampla abordagem epidemiológica, têm demonstrado alta incidência de mortalidade por doenças cardiovasculares em pessoas sedentárias[13,14]. No sentido de minimizar esses efeitos deletérios, a prática regular de exercício físico tem sido associada à promoção de saúde e à prevenção de numerosas doenças crônico-degenerativas[13,14], tornado-se parte importante nas estratégias não farmacológicas de controle da obesidade e do ganho de peso[6].

O aumento crescente da obesidade e suas conseqüências metabólicas têm favorecido a prática de exercícios físicos, como sendo um possível fator interveniente na redução do peso corporal. No entanto, os mecanismos dessa ação ainda são inconclusivos, podendo estar relacionado, dentre outros, aos níveis de gordura da dieta, ao tipo de exercício e ao tempo de exposição[15].

Acerca do exposto acima, o objetivo do presente estudo foi verificar os efeitos da administração crônica de uma dieta hiperlipidica palatável sobre o ganho de peso corporal, a adiposidade e os níveis sanguíneos da glicose, do triglicerídeo e do colesterol, em ratos adultos sedentários e treinados. No sentido de esclarecer os potenciais efeitos dessa dieta associada ao exercício físico sobre o metabolismo lipídico dos animais.

MÉTODOS

Animais

Foram utilizados 40 ratos machos albinos da linhagem *Wistar*, com 21 dias de vida, procedentes do Biotério do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco. Os animais foram divididos em dois grupos, o Grupo Hiperlipídico (H) alimentados com dieta hiperlipídica palatável (n=20) e o Grupo Controle (C) alimentados com Labina (n=20), dieta adotada como padrão pelo biotério, por 18

semanas. Os ratos e os comedouros foram pesados em dias alternados. Durante o período de experimentação os animais foram mantidos em gaiolas individuais, em ambiente com temperatura constante de 23±1ºC, com foto período artificial de 12/12 horas, tendo livre acesso à água e ao alimento. Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, e seguiu as normas sugeridas pelo Comitê Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

Dieta Hiperlipídica

A dieta hiperlipídica, previamente padronizada, consistiu de uma mistura de alimentos hipercalóricos [4,16], na seguinte proporção: 15g de ração padrão (Labina), 10 g de chocolate ao leite, 10 g de amendoim torrado e 5g de biscoito maisena, na proporção 3:2:2:1. Destes constituintes, a ração, o amendoim e o biscoito foram moídos, enquanto o chocolate foi derretido em banho Maria. Todos os ingredientes foram misturados até formarem uma massa que foi posteriormente aquecida em estufa e oferecida na forma de péletes. A densidade calórica encontrada para a dieta hiperlipídica palatável foi de 4,8 kcal/100g (24,5% de Lipídeos), enquanto que a dieta padrão apresentou 2,7 kcal/100g (4% de Lipídeos).

Extração e Metilação

As análises físico-químicas foram realizadas no Laboratório de Experimentação e Análise de Alimentos (LEAAL) do Departamento de Nutrição do Centro de Ciências da Saúde e a análise cromatográfica no Laboratório de Cromatografia Instrumental, ambos da Universidade Federal de Pernambuco.

Os extratos lipídicos obtidos foram esterificados e a análise cromatográfica realizada em cromatógrafo a gás modelo CG Master com detector de ionização de chama, com 22 minutos de corrida, tendo o hidrogênio como gás de arraste, numa vazão de 5 mL/min [17,18].

Para a identificação dos ácidos graxos foi utilizado o padrão de ésteres metílicos de ácidos graxos autênticos (MERCK-USA), comparando-se o tempo de retenção na coluna das amostras e do padrão. Os cromatogramas foram registrados em um software

tipo Peaksimple (SRI Instruments-USA). A quantificação dos ácidos graxos foi determinada por normalização de área, expressando-se o resultado em percentual de cada ácido sobre o total de ácidos graxos A transformação da percentagem centesimal para g/100g de amostra foi feita multiplicando a área correspondente a cada ácido (%) pelo teor de gordura da dieta analisada, dividindo este resultado por 100. Todas as análises espectrofotométricas foram realizadas em duplicata[17].

Treinamento Físico Moderado

Aos 90 dias de vida, os animais de cada grupo foram subdivididos em 2 grupos cada, formado um total de 4 grupos: Grupo Hiperlipídico (H)(n=10), Grupo Hiperlipídico Treino (HT)(n=10), Grupo Controle(C)(n=10), e Grupo Controle Treino (CT))(n=10). Os animais do grupo treino foram submetidos à natação (8 semanas, 5dias/sem, 45min/dia). Vinte e quatro horas após a última sessão de treino foram coletadas amostras de sangue, através de uma pequena incisão na ponta da cauda dos ratos para em seguida, os animais serem anestesiados e sacrificados. Imediatamente após o sacrifício, os tecidos adiposos brancos Retroperitoneal, epididimal e visceral, foram retirados, pesados e mantidos a -20ºC para análises posteriores.

O teste "t" de student para amostras independentes foi usado para comparar as médias dos resultados obtidos entre os grupos, adotando o nível de significância de $p<0,05$.

RESULTADOS

Peso corporal

Por meio da avaliação do peso corporal (g) dos animais dos grupos hiperlipídico (H) (n=20) e controle (C) (n=20) e do consumo de alimentos (g/100g de peso corporal) expressos em média e desvio padrão pode-se observar que, do início da administração das dietas até as 18 semanas subseqüentes, os pesos corporais dos animais que receberam dieta hiperlipídica não foram diferentes comparados aqueles ue se alimentaram com a dieta padrão. Seguem descritos os valores de acordo com os intervalos de dias de vida H (415,0 ±21,5; $p\leq0,05$) e do C (400,0 ±18,7; $p\leq0,05$).

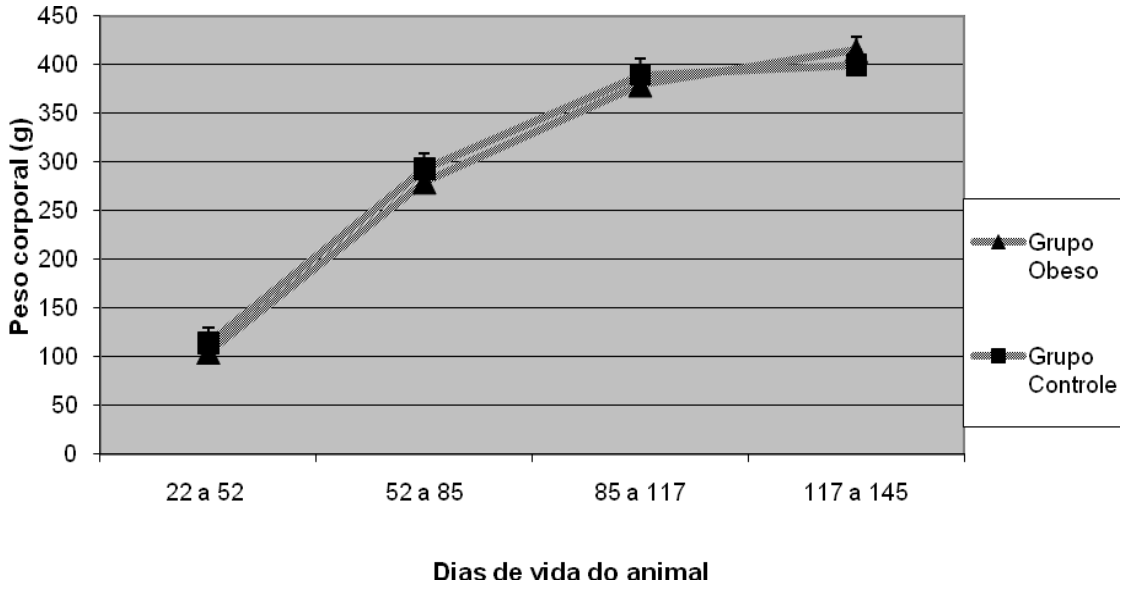


Figura 1- Peso corporal durante o período de administração das dietas, 18 semanas, nos grupos Hiperlipídico (H) (n=20) e Controle (C) (n=20). Os valores foram expressos em média e desvio padrão. *=p≤0,05

Gordura Visceral

A gordura visceral dos grupos Hiperlipídico (H) e Controle (C) em gramas durante 18 semanas, expressos em média e desvio padrão, apresentou-se aumentada no grupo (H) (14.5 ± 0.8; p≤0,05) em relação ao grupo Controle (C) (4.8 ± 0.3 p≤0,05). Os valores foram expressos em média e desvio padrão

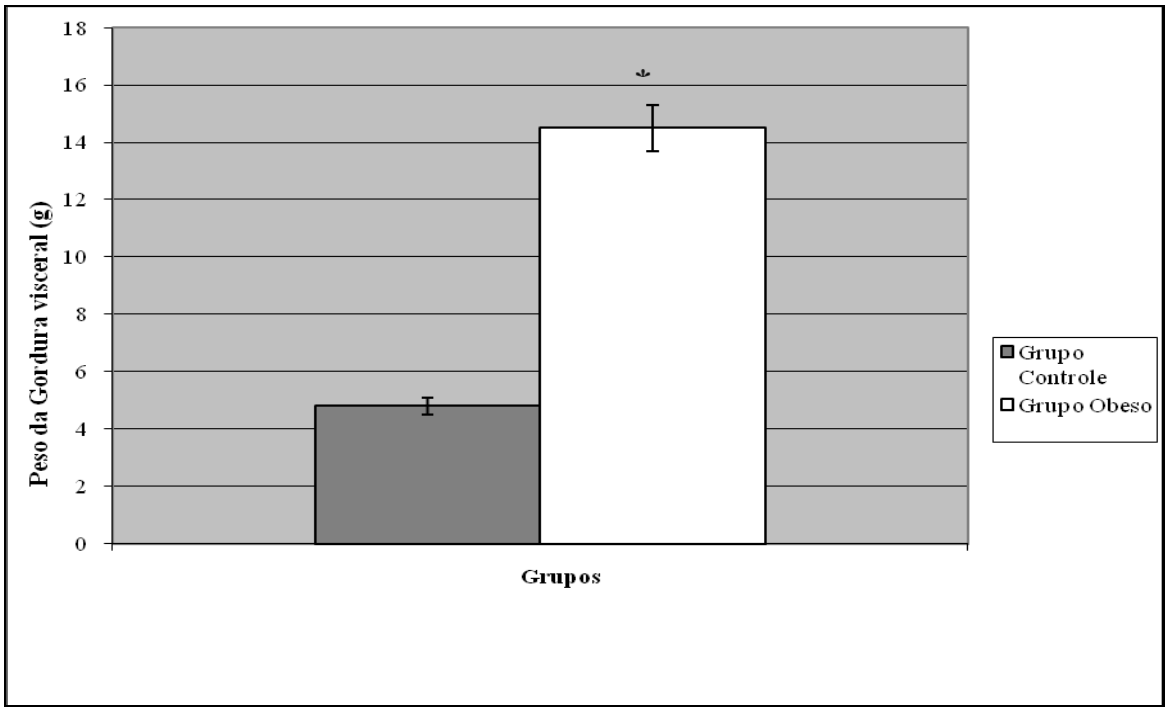


Figura 2- (Gordura visceral após 18 semanas de consumo das dietas nos grupos Hiperlipídico (H) (n=20) e Controle (C) (n=20). Os valores foram expressos em média e desvio padrão. *=p≤0,05

Análise Bioquímica

As concentrações séricas (mg/dL) do Colesterol Total (Ct), da Glicose (G) e dos Triglicerídeos (TG) nos grupos Hiperlipídico (H), Hiperlipídico Treino (HT), Controle (C) e Controle Treino (CT). O grupo CT apresentou níveis de Colesterol Total mais elevado em comparação com os demais grupos (CT=120,00±10,0; C=90,0±10,0; HT=110,0±10,0 e H= 96,0±10,0, p≤0,05). A concentração sérica de Glicose, não apresentou diferença significativa entre os grupos (CT=110,0±0,7; C=115,0±0,7; HT=115,0±0,7 e H= 110,0±0,7, p≤0,05). Os níveis de Triglicerídeos foram mais elevados no grupo HT (170,0±45,0) em relação aos demais grupos (H=120,0±45,0; CT=126,0±45,0 e C=130,0±45,0, p≤0,05). Os valores foram expressos em média e desvio padrão.

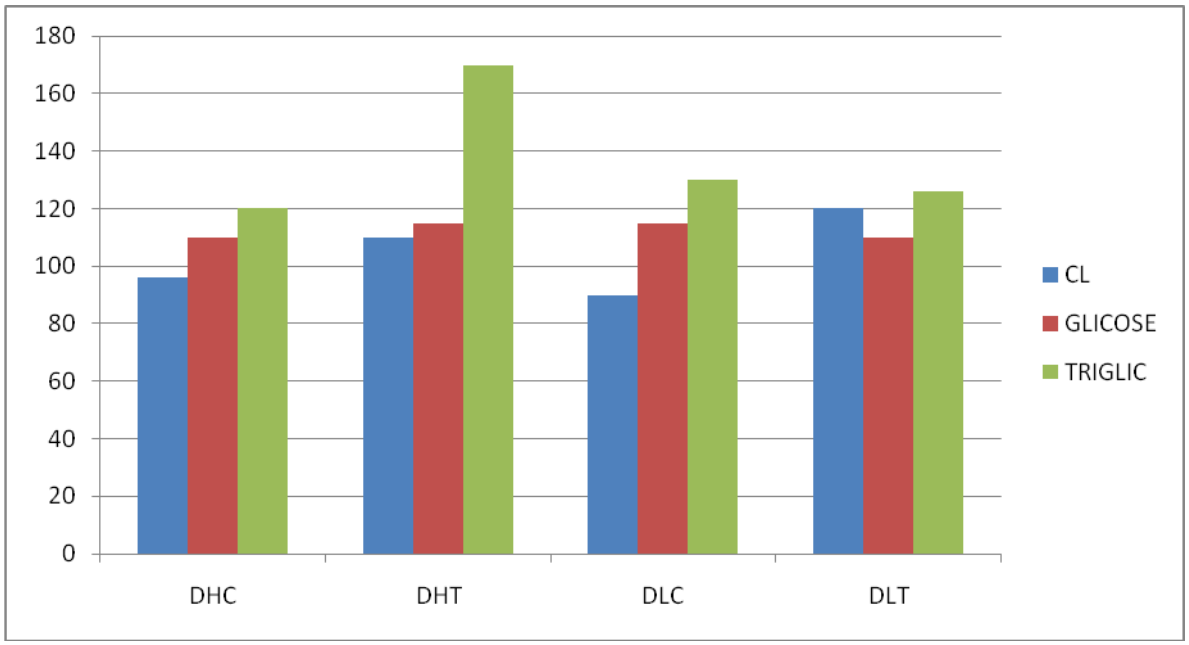


Figura 3- Concentração sérica (mg/dL) de Colesterol Total (Ct), Glicose (G) e Triglicerídeos (TG) dos grupos experimentais, após 18 semanas, nos grupos Hiperlipídico (H) (n=10), Hiperlipídico Treino (HT) (n=10), Controle (C) (n=10) e Controle Treino (CT) (n=10). Os valores foram expressos em média e desvio padrão. *=p≤0,05

EXTRAÇÃO E METILAÇÃO

COMPOSIÇÃO CENTESIMAL (Área %)

Para estudo da dieta hiperlipidica foram analisadas 100 gramas sendo verificado em duplicata o que se constituíram em duas amostras. Em ambas foram verificadas a presença de ácidos graxos saturados e insaturados. Entre as duas amostras, a predominância dos ácidos graxos saturados era esperada, uma vez que os produtos que compõem a matéria prima da dieta, chocolate ao leite, amendoim e biscoito de maisena, têm em sua composição elevados níveis de ácido graxo saturado. Dentre os ácidos graxos saturados considerados hiperlipidêmicos e hipercolesterolêmicos, o láurico (C12:0) foi encontrado nas duas amostras (amostra 1=15,9% e amostra 2=10,4%). O mirístico (C14:0) considerado o mais efetivo ácido graxo na elevação da colesterolemia, não difere muito entre as amostras(amostra 1=7,5% e amostra 2=9,6%) . O Palmítico (C16:0), que tem como fonte o cacau, um dos constituinte da dieta, potencialmente elevou a

concentração plasmática de colesterol e de LDL-C, tendo sido o mais abundante nas duas amostras (em uma amostra foi de 14,8% e na outra amostra foi de 19,5%).

Quanto aos monoinsaturados houve predominância do acido oléico (C18:1) nas amostras estudadas (uma amostra foi de 46,3% e na outra amostra foi de 37,8%), o que é benéfico, uma vez que ele reduz a concentração plasmática de LDL-C, além de induzir menor síntese endógena de colesterol, quando comparado a ácidos graxos poli-insaturados. A densidade calórica dessa dieta foi de 4,8 kcal/100g (24,5% de lipídeos) em comparação com a dieta que apresentou 2,7 kcal/100g (4% de lipídeos).

Tabela 1. Análise cromatográfica

ÉSTER	CONCENTRAÇÃO (%)	
	1 AMOSTRA	2 AMOSTRA
C4:0	0,0	0,0
C6:0	0,0	0,0
C8:0	0,0	0,0
C10:0	0,0	3,6
C11:0	0,0	0,9
C12:0	15,9	10,4
C14:0	7,5	9,6
C14:1	0,0	0,0
C15:0	0,0	0,0
C16:0	14,8	19,5
C16:1	0,0	1,4
C17:0	0,0	1,9
C18:0	5,1	4,7
C18:1	46,3	37,8
C18:2	10,4	7,3
C18:3	0,0	3,0
TOTAIS	100,0	100,0

DISCUSSÃO

Diversos estudos têm discutido os efeitos do consumo de dietas hiperlipídicas sobre a adiposidade visceral e a sua relação com o desenvolvimento de obesidade e as doenças crônicas não transmissíveis[19-22]. Os efeitos dessas dietas sobre o peso corporal e o consumo alimentar apresentam resultados controversos na literatura, principalmente devido ao tempo de administração, como pode ser observado em diversos estudos [4,16,23-25].

Dietas ricas em gordura reduzem a eficiência alimentar e aumentam a eficiência metabólica, o que pode explicar porque a dieta hiperlipídica não apresentou resultados sobre o ganho de peso (Figura 1), esses dados também foram encontrados em outro estudo[25]. Além disso, os animais alimentados com dieta hiperlipídica apresentaram aumento na adiposidade central, referente ao acúmulo de tecido adiposo retroperitoneal e visceral, quando comparados com o grupo alimentado com dieta padrão[4].

Ressalta-se que a adiposidade central refere-se ao acúmulo de tecido adiposo retroperitoneal e a adiposidade visceral ao acúmulo dos tecidos adiposos epididimal e visceral (Figura 2), como demonstrado em diversos estudos [16,24,25,26]. Comprovando a ineficiência da dieta hiperlipídica em gerar a obesidade exógena em ratos. Entretanto, estes efeitos foram atenuados pelo treinamento físico, mas, estes valores não foram normalizados em decorrência do treinamento físico moderado. Esses dados são compatíveis aos encontrados por Estadella et al [4].

O treinamento físico desempenha ação benéfica no combate ao desenvolvimento da obesidade exógena. Estudos prévios evidenciaram que o treinamento físico aumenta a capacidade de mobilização da gordura existente. Sabe-se também que a predominância da utilização dos substratos de fonte lipídica está fortemente regulada pelo tipo, duração e intensidade do exercício, assim como pela ação hormonal e dieta ingerida, resultados semelhantes foram encontrados em outros estudos realizados[27,28].

Quanto ao perfil lipídico, o consumo excessivo de gordura está relacionado com o desenvolvimento de dislipidemias, entretanto, a dieta hiperlipídica não aumentou as concentrações séricas de Ct e de G, porém, o aumento foi verificado nos níveis de TG

(Figura 3). Esses resultados reforçam o papel da dieta hiperlipídica como modelo experimental de desenvolvimento de obesidade e de tendência a desencadear a síndrome metabólica como verificado em outros achados[29-31]

O estudo realizado por Schrauwen e Westerterp[24], destacou que o consumo prolongado de dietas hiperlipídicas associado ao treinamento, promoveram diminuição da glicemia. Em relação aos lipídios diversos autores não demonstraram elevação no ganho de peso em ratos alimentados com dietas ricas em lipídios [32,33].

A dieta hiperlipidica e o treinamento de natação melhoraram o perfil lipídico dos animais, quando comparado com o grupo H, pois promoveram aumento dos TG e aumento do HDL-c (Figura 3). Esse aumento nos TG circulantes pode estar relacionado ao tipo de treinamento, uma vez que a demanda energética neste caso é maior, sendo necessárias adaptações para a manutenção dos estoques de glicogênio para a próxima sessão de exercício, esses achados coincidem com os verificados por Bernardes et al [25] .

Dentre as formas de intervenção que visam a reduzir os efeitos adversos da dieta hiperlipidica e do sedentarismo, está a associação de uma dieta balanceada à prática regular de exercício físico, que têm sido amplamente estudados. Entretanto, as adaptações metabólicas dependem da intensidade, da freqüência e da duração do exercício, esses parâmetros foram encontrados em outros estudos[4,23] ..

O Colégio Americano de Medicina Esportiva (ACMS) e o Centro para Controle e Prevenção de Doenças (CDC) estipularam que o acúmulo de 30 minutos ou mais de atividade física moderada durante o decorrer do dia, todos os dias da semana, gera promoção de saúde e prevenção de doenças. No entanto, outros estudos reportam que essa recomendação seria insuficiente para prevenir o ganho de peso e sugerem o acúmulo de 60 minutos pode ser necessário para maximizar a perda de peso, prevenindo o ganho de peso e o desenvolvimento da obesidade [34].

Diversos estudos experimentais reportam que a prática regular de exercício físico é um componente importante para o controle do peso corporal. Assim, níveis adequados de atividade devem ser prescritos para combater a epidemia da obesidade e favorecer a

manutenção do peso corporal. O exercício de intensidade moderada promove redução no peso corporal e na adiposidade, além de melhorar o perfil lipídico[16,25,29].

Como já amplamente conhecido, as alterações no perfil lipídico (Ct e TG) podem resultar em diversas doenças, entre elas as doenças cardiovasculares, promovendo a formação da placa de ateroma, hiperlipidemia, hipertensão arteriais, resistência insulínica, dislipidemias, diabetes *mellitus*, entre outras[35]. O principal achado desse estudo é que a dieta hiperlipidêmica, também conhecida como "dieta de cafeteria", resulta em um aumento nos níveis séricos tanto de Ct quanto de TG, tal como foi elucidado por alguns autores[36,37].

De acordo com os achados de diversos autores[38-40], dietas hipercalóricas, ricas em lipídeos, são freqüentemente utilizadas em ensaios experimentais para induzir distúrbios metabólicos comuns em humanos e em roedores. No entanto, não há consenso relativo ao teor e à composição de ácidos graxos, saturados ou insaturados, utilizados nessas intervenções.

Sabe-se que, durante exercícios a partir de 30 minutos de duração e de intensidade leve a moderada, o percentual de reesterificação dos ácidos graxos livres reduz de 70% a aproximadamente 25%. Essa diminuição associada ao aumento (3 vezes) na liberação dos ácidos graxos livres advindos da hidrólise dos triacilgliceróis, resulta em um aumento de 6 vezes na disponibilidade de AGL para a oxidação. Além disso, o transporte dos AGL do tecido adiposo para o tecido muscular ativo durante o exercício, também aumenta, corroborando com outros resultados verificados [41].

CONCLUSÃO

Pode-se concluir que a dieta hiperlipídica foi eficiente na indução de obesidade central (RET) e visceral (EPI) em ratos. O treinamento físico moderado por sua vez, reduziu este efeito. No plasma dos animais, quanto aos níveis das dosagens bioquímicas foi verificado que dieta hiperlipídica associada a treinamento físico não foram eficazes, para reduzir os níveis de triglicerídeos séricos, sugerindo a importância em longo prazo de treinamento físico para o controle do balanço energético.

Assim, a melhor forma de intervenção para o controle da obesidade exógena é a prática de exercícios associados à dieta balanceada, pois essa combinação parece promover manutenção do peso corporal, diminuição da adiposidade, do percentual de gordura do tecido visceral, melhora no perfil lipídico e combate aos efeitos deletérios da obesidade. No entanto, novos estudos são necessários para elucidar os mecanismos em resposta ao exercício físico e alterações na dieta, em seus aspectos celulares, moleculares e fisiológicos.

COLABORADORES

S.M.M.S. PORTO participou de todas as etapas do projeto de pesquisa.

KMFERREIRA E SILVA colaborou com o desenvolvimento da pesquisa e a análise dos resultados.

RR DA SILVA colaboraram com o projeto e a análise dos resultados.

SC MELO FILHO foi responsável pelos processos de extração e metilação

ARP SCHULER foi responsável pela análise cromatográfica

NB GUERRA colaborou com a análise dos resultados.

CMMB DE CASTRO orientou o projeto de pesquisa

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Duarte FO. Adaptações metabólicas a dois tipos de treinamento moderado de natação, contínuo e intermitente, em ratos machos adultos alimentados com dieta normocalórica e hipercalórica [dissertação]. São Carlos: Universidade Federal de São Carlos; 2001.

2. Hardman AE. Physical activity, obesity and blood lipids. Int J Obes. 1999; 23(3):S64-S7.Physical activity, obesity and blood lipids. Int J Obes.1999; 23(3):S64-S7.

3. Hill, JO; Fried, SK; Digirolamo, M. Effects of a high fat diet on energy intake and expenditure in rats. Life Sci. 1983**.** 33: l4l-. 149,

4. Estadella D, Oyama LM, Dâmaso AR, Ribeiro EB, Oller do Nascimento CM. Effect of palatable hyperlipidic diet on lipid metabolism of sedentary and exercised rats. Nutrition. 2004; 20(2):218-24.

5. Prada PO, Zechin HG, Gasparetti AL, Torsoni MA,Ueno M, Hirata AE, et al. Western diet modulatesinsulin signaling, activity and IRS-1ser307phosphorylation in a tissue-specific fashion.Endocrinology. 2005; 146(3):1576-87.

6. Christi AW, McCormick DK, Emmison N, Kraemer FB, Alberti KG, Yeaman SJ. Mechanism of anti--lipolytic action of acipimox in isolated rat adipocytes. Diabetologia. 1996; 39(1):45-53.

7. Murray RK, Granner DL, Mayes PA, Rodwell VW. *Harper: Bioquímica*

São Paulo: Atheneu, 2002. 919p.

8. Lehninger AL, Nelson DL, COX MM. *Lehninger: princípios de bioquímica*. 3.ed.

São Paulo: Sarvier, 2002. 975p.

9. Faria EA, Leles MIG, Ionashiro M, Zuppa TO, Antoniosi Filho NR. Estudo da

estabilidade térmica de óleos e gorduras vegetais por TG/DTG e DTA. Eclet

Quím. 2002; 27:111-19.

10. Salem Jr N. Introduction to polyunsaturated fatty acids. *Backgrounder* 1999; 3(1):

11. Carvalho PO, Campos PRB, Noffs MA, Oliveira JG, Shimizu JT, Silva DM.

Aplicação de Lipases Microbianas na Obtenção de Concentrados de Ácidos

Graxos Poliinsaturados. Quim Nova 2003; 26(1): 75-80.

12. Gibson RA. Docosa-hexaenoic acid (DHA) accumulation is regulated by the

polyunsaturated fat content of the diet: Is it synthesis or is it incorporation? Asia

Pac J Clin Nutr. 2004; 13(Suppl):S78.

13. Farrell, W.S.; KAMPERT, J.B.;KOHL III, H.W.; BARLOW, C.E. et al Influences of cardiorespiratory fitness levels and other predictors on cardiovascular disease mortality in men. Med. Sci Sports. Exerc, 1998, 30(6): 899-905.

14. Leandro, C. Influência do treino de resistência moderado na resposta imunológica de ratos submetidos à contenção aguda. Tese de Doutorado, Porto, Portugal, 2005.

15.. Mendonça AC, Carneiro EM, Bosqueiro JR, Crepaldi-Alves SC, Boschero AC. Development of the insulin secretion mechanism in fetal , Rev Nutr 1999; 19(3): 341-8.

16. Duarte ACGO, Fonseca DF, Manzoni MSJ, Soave CF, Sene-Fiorese M, Damaso AR, Cheik NC. Dieta hiperlipídica e capacidade secretória de insulina em ratos. Rev Nutr 2006; 19(3): 341-8.

17. Folch, J; Lees, M; Stanley, S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. - J. biol. Chem, 1957

18. Hardman AE. Physical activity, obesity and blood lipids. Int J Obes. 1999; 23(3):S64-S7.

19. Manzoni MS, Rossi EA, Carlos IZ, Vendramini RC, Du World Health Organization (1992a arte AC, Dâmaso AR. Fermented soy product supplemented with isoflavones affected fat depots in juvenile rats. Nutrition. 2005; 21(10):1018-25.

20. Lovoie JM, Yasari S, Abdennadher M, Paquette A. Effects of alternations (10 days) of high-fat diet with normal diet on liver lipid infiltration, fat gain, and plasma metabolic profile in rat. Physiol Behav. 2005; 86(4):442-8. doi:10.1016/j.physbeh.2005. 07.018

21. Poobalan A, Aucott L, Smith WCS, Avenell A, Jung R, Broom J, et al. Effects of weight loss in overweight/obese individuals and long-term lipid outcomes: a systematic review. Obs Rev. 2004; 5(1):43-50.

22. Hida K, Wada J, Eguchi J, Zhang H, Baba M, Seida A et al. Visceral adipose tissue-derived serine protease inhibitor: a unique insulin-sensitizing adipocytokine in obesity. Proc Natl Acad Sci USA. 2005; 102(30):10610-5. doi: 10.1073/pnas.0504 703102.

23. Duarte FO, Sene MO, Oishi J, Bidinotto P, Peres SEA, Moraes G, et al. O exercício de final de semana contribui para o controle das dislipidemias em ratos adultos machos alimentados com dieta rica em gorduras. Rev Bras Fisioter. 2003; 7(3):229-35

24. Schrauwen P, Westerterp KR. The role of high-fat diets and physical activity in the regulation of body weight. Br J Nutr. 2000; 84(4):417-27.

25. Bernardes D, Manzoni MSJ, Souza CP, Tenório NM, Dâmaso AR. Effects of a high-fat diet and swimming moderated training on post exercise metabolism in male adults rat. Rev Bras Educ Fís Esp. 2004; 18(2):191-200

26. Gaíva MHG, Couto RC, Oyama LM, Couto GE, Silveira VL, Riberio EB, Nascimento CM. Polynsaturated fatty acid-rich diets: effect on adipose tissue metabolism in rats. Br J Nutr. 2001; 86(2):371-7

27. Ruby BC, Robergs RA. Gender differences in substrate utilisation during exercise. Sports Med1994; 17: 393‐ 410.

28. Borsheim E, Lonnroth P, Knardahl S, Jansson PA. No difference in the lipolitic response to beta‐ adrenoceptor stimulation in situ but a delayed increase in adipose tissue blood flow in moderately obese compared with lean men in the postexercise period. Metabolism 2000; 49: 579‐ 87.

29. Gauthier MS, Couturier K, Latour JG, Lavoie JM. Concurrent exercise prevents high-fat-diet-induced macrovesicular hepatic steatosis. J Appl Physiol. 2003; 94(6):2127-34.

30. Woods SC, Seeley RJ, Rushing PA, D´Alessio D, Tso P. A controlled high-fat diet induces an obese syndrome in rats. J Nutr. 2003; 133(4):1081-7

31. Diniz YS, Fernandes AAH, Campos KE, Mani F, Ribas BO, Novelli EL. Toxicity of hypercaloric diet and monosodium glutamate: oxidative stress and metabolic shifting in hepatic tissue. Food Chem Toxicol. 2004; 42(2):319-25. doi:10.1016/j.fct. 2003.09.006.

32. Kim, H et al. Modulation of immune responses by treadmill exercises in Sprague-Dawley rats. J Sports Med Phys Fitness, 2003, 43: 99-104.

33. Iossa S, Lionetti L, Mollica MP, Crescenzo R, Botta M, Barletta A, et al. Effect of high-fat-feeding on metabolic efficiency and mitochondrial oxidative capacity in adults. Br J Nutr. 2003; 90(5):953-60.

34. Jakicic,J. e Otto, AD. Physical activity considerations for the treatment an prevention of obesity. Am J Clin Nutr 2005;82(suppl):226S–9S.

35. Jequier, E. Pathways to obesity. Int J Obes Relat Metab Disord, 2006, v.26, n.12, p. 322.

36. Gus I, Fischmann A, Medina C. Prevalência dos Fatores de Risco da Doença Arterial Coronariana no Estado do Rio Grande do Sul (Instituto de Cardiologia do Rio Grande do Sul). Arq. Bras. De Cardiologia 2002; 78 (5): 478-83.

37. Stein FLP, Schmidt B, Furlong EB, Souza-Soares LA, Soares MC, Vaz MR, Muccillo Baisch AL. Vascular responses to extractable fractions of Ilex paraguariensis in rats fed standard and high-cholesterol diets. Biological Research For Nursing 2005; 7 (2): 146-56.

38. Sharma N, Okere IC, Duda MK, Chess DJ, O'Shea KM, Stanley WC. Potential impact of carbohydrate and fat intake on pathological left ventricular hypertrophy. Cardiovasc Res. 2007; 73 (2): 257-68.

39.Buettner R, Schölmerich J, Bollheimer LC. High-fat diets: modeling the metabolic disorders of human obesity in rodents. Obesity. 2007; 15: 798-808

40. Dourmashkim JT, Chang GQ, Gayles EC, Hill JO, Fried SK, Julien C, et al. Different forms of obesity as a function of diet composition. Int J Obes. 2005; 29: 1368-78.

41.Achten J, Jeukendrup AE. Optimizing fat oxidation through exercise and diet. Nutrition. 2004; 20(7-8): 716-27.

ALTERAÇÕES QUANTITATIVAS DE LEUCÓCITOS DO SANGUE E FUNÇÃO DE MACRÓFAGOS ALVEOLARES EM RATOS ADULTOS OBESOS SUBMETIDOS AO TREINAMENTO FÍSICO DE NATAÇÃO

Solange Maria Magalhães da Silva Porto[1]

Karla Melo Ferreira da Silva[2]

Rosângela Rosendo da Silva[3]

Vanessa de Oliveira Santana[4],

Péricles Delano[5],

Célia Maria Machado Barbosa de Castro[6].

[1/2/3] Doutorandas em Nutrição, Depto. de Nutrição, Centro de Ciências da Saúde – Universidade Federal de Pernambuco – UFPE.

[4,5] Alunos de Iniciação Científica, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco – UFPE.

[6] Professora Adjunto da Disciplina de Microbiologia e Imunologia, Depto. de Medicina Tropical, Centro de Ciências da Saúde – Universidade Federal de Pernambuco – UFPE.

Correspondência para: Célia Mª. M. B. de Castro, Departamento de Medicina Tropical, Cidade Universitária, 50670-901 Recife, PE, Brasil Tel.: +55 81 32718486 – ext. 27, Fax: +55 81 32718485

E-mail: solangemporto@ibest.com.br

RESUMO

Objetivo: Avaliar alterações de leucócitos do sangue e função de macrófagos alveolares em ratos adultos obesos submetidos a treinamento físico de natação. **Métodos:** Utilizaram-se 40 ratos machos, albinos, *Wistar*, submetidos a ciclo claro/escuro de 12 horas e sob condições padronizadas. Após o desmame, os animais foram divididos em 2 grupos: controle (C) e hiperlipídico (H). A administração da dieta hiperlipídica foi introduzida a partir do desmame enquanto o grupo controle foi alimentado com dieta padrão, Labina, durante 18 semanas. Peso corporal e consumo de ração foram avaliados diariamente. Aos 90 dias de vida, metade dos animais de cada grupo foi submetida a treinamento físico moderado com natação, constituindo-se os grupos: Controle (C); Controle Treino (CT); Hiperlipidico (H) e Hiperlipidico Treino (HT). Vinte e quatro horas após o último treino coletou-se sangue (0,5mL) para análise do tipo e quantidade das células. Os macrófagos foram isolados de lavado broncoalveolar e as funções analisadas foram: produção de óxido nítrico e taxa de fagocitose. ANOVA foi utilizado para a comparação entre os grupos nos dados paramétricos e Mann-Whytney nos não paramétricos. Os resultados foram representados em média±erro-padrão. **Resultados:** Após 18 semanas da administração das dietas o peso corporal médio foi semelhante nos 2 grupos. O consumo alimentar do grupo H foi 32% menor em relação ao grupo C. O valor de leucócito total foi igual em todos os grupos. Os linfócitos apresentaram-se em maior número nos animais obesos quando comparados aos controles, o maior valor verificado foi no grupo HT (11±2,3). Os eosinófilos não tiveram alteração. Os neutrófilos apresentaram aumento para os grupos treinados CT (29.0±3.2) e HT (29.0±3.9). Os valores de macrófagos foram maiores no grupo CT (139±11.2) e os demais grupos tiveram resultados equivalentes entre si. Houve aumento na taxa de fagocitose quando comparou-se animais do grupo controle (CT=51.0±5.1) com o HT (HT=34.9±3.9; p=0,003). A produção de óxido nítrico foi mais elevada no grupo CT estimulado com LPS. **Conclusão:** Não houve alteração na contagem dos leucócitos totais do sangue periférico, entretanto, os valores de linfócitos, neutrófilos e macrófagos estavam aumentados nos animais treinados, com dieta hiperlipídica ou não. O treinamento não alterou nem a taxa de fagocitose nem a produção do óxido nítrico pelos macrófagos alveolares demonstrando com isso que o treinamento físico melhora ou não altera os parâmetros da resposta imune estudados.

Palavras-chave: Dieta Hiperlipdica, Treinamento Físico Moderado, Óxido nítrico, Taxa de fagocitose, Leucócitos Totais e diferenciais, Ratos.

ABSTRACT

Objective: To evaluate changes in blood leukocytes and alveolar macrophage function in obese adult rats subjected to physical training in swimming. **Methods:** We used 40 male rats, albino rats, subjected to light / dark cycle of 12 hours under standard conditions. After weaning, the animals were divided into two groups: control (C) and lipids (L). The administration of fat diet was introduced from weaning while the control group was fed a standard diet, Labina for 18 weeks. Body weight and food intake were recorded daily. At 90 days old, half the animals in each group were subjected to physical training with swimming, constituting groups: Control (C) Control Training (CT) Lipids (L) and Lipids Training (LT). Twenty-four hours after the last training session was collected blood (0.5 mL) for analysis of the type and quantity of cells. Macrophages were isolated from bronchoalveolar lavage and functions were evaluated: nitric oxide production and rate of phagocytosis. ANOVA was used to compare the groups on parametric data and Mann-Whitney nonparametric us. The results were expressed as mean ± standard error**. Results:** After 18 weeks of administration of diets mean body weight was similar in the two groups. Dietary intake of group L was 32% lower than in group C. The value of total leukocytes was similar in all groups. Lymphocytes showed up in greater numbers in the obese animals compared to controls, the highest value was observed in the LT group (11 ± 2.3). Eosinophils did not change. Neutrophils were increased for the trained groups CT (29.0 ± 3.2) and LT (29.0 ± 3.9). The values of macrophages were higher in CT (139 ± 11.2) and the other groups had similar results with each other. There was an increase in the rate of phagocytosis when compared to the control group (CT = 51.0 ± 5.1) with LT (LT = 34.9 ± 3.9, p = 0.003). The production of nitric oxide was higher in the CT group stimulated with LPS. **Conclusion:** There was no change in total leukocyte count of peripheral blood, however, the values of lymphocytes, neutrophils and macrophages were increased in trained animals with high fat diet or not. The training changed neither the rate of phagocytosis nor the production of nitric oxide by alveolar macrophages thereby demonstrating that exercise training improves or does not change the parameters of the immune response studied.

Key-words: Diet Hiperlipdica, Moderate Physical Training, nitric oxide, rate of phagocytosis, total leukocyte and differential Rats.

INTRODUÇÃO

Pesquisas da WHO em 2005 indicam que a prevalência da obesidade tem crescido em níveis alarmantes em diversos países, aproximadamente 1,6 bilhões de adultos apresentavam sobrepeso e por volta de 400 milhões de adultos eram obesos, e cerca de 20 milhões de crianças com idade inferior a cinco anos apresentaram excesso de peso em nível mundial em 2005. A estimativa é que até 2015, aproximadamente, 2,3 bilhões dede adultos terão sobrepeso e mais de 700 milhões serão obesos (WHO, 2005).

Segundo Fisberg (2004) a obesidade pode ser considerada como um acúmulo anormal ou excessivo de tecido gorduroso, regionalizando ou em todo o corpo, caracterizando-se como uma das doenças não transmissíveis que mais cresce em todo o mundo, pois, nas últimas décadas, tem se apresentado nas diversas faixas etárias. E pode ser considerada como a doença de maior morbidade no paciente adulto, e está relacionada à pobreza, raça, condições genéticas e ambientais.

A obesidade pode ser induzida em animais por alterações neuroendócrinas, dietéticas ou genéticas. Ainda de acordo com estes autores, a administração de dieta hipercalórica é o modelo mais simples para indução da obesidade e um dos que mais se assemelha à realidade da obesidade em seres humanos. Há vários tipos de dietas para induzir obesidade que se revelam eficazes. Algumas dietas hipercalóricas são realizadas acrescentando hidratos de carbono e outras, aumentando a porcentagem de gorduras, a maioria delas varia entre 3,7 kcal/g e 5,4kcal/g, mas todas induzem obesidade (DIEMEN et al, 2006).

A visão tradicional do tecido adiposo como sendo um passivo reservatório para o armazenamento de energia não é mais válida (KERSHAW, FLIER, 2004). O tecido adiposo é agora conhecido por expressar e secretar uma variedade de peptídeos bioativos, conhecidos como adipocinas, que atuam em nível autócrino, parácrino e sistêmico. As

adipocinas por ele produzidas têm ações diversas, podendo–se agrupá-las de acordo com a sua principal função como: função imunológica, cardiovascular, metabólica e endócrina (COSTA, DUARTE, 2006). Segundo Kershaw e Flier (2004) a importante função do tecido adiposo é enfatizada pelas conseqüências adversas metabólicas de ambos: excesso e deficiência de tecido adiposo.

Várias linhas de evidências têm apoiado um elo entre tecido adiposo e células imunológicas (MARTÍ, MARCOS e MARTINEZ, 2001). A obesidade tem sido identificada como um fator de risco de infecção e falta de cicatrização após cirurgias (FASOL et al, 1992; MOULTON et al, 1994). Além disso, queimaduras em pessoas com sobrepeso mostraram maior risco de infecção e bacteremia quando comparados co m pacientes com peso adequado (GOTTSCHLICH et al, 1993; LEANDRO, 2005).

O exercício físico pode atuar, em qualquer instância, ao longo da sequência de eventos da resposta imune (BRENNER et al, 1998). Tendo em consideração que diferentes tipos de cargas de exercício físico podem ter repercussões distintas no sistema imunológico (KEAST et al, 1988; LEANDRO, 2005). É importante salientar que o exercício físico moderado (até 70% do VO_{2max}) e o exercício intenso (acima de 75% do VO_{2max}) influenciam de forma diferente os parâmetros da imunidade tanto celular quanto humoral (BRENNER et al, 1999).

Diante das evidências sobre o efeito benéfico do exercício físico moderado, vários estudos tem-se voltado para o efeito do treino físico moderado no sistema imune. O treinamento físico moderado parece estar associado à melhoria de muitas funções imunes, podendo retardar ou até mesmo prevenir a incidência ou a progressão de diversas enfermidades (BACURAU et al, 2000). As células do sistema imune parecem sensíveis a um conjunto de adaptações, logo, o papel do treinamento físico moderado e regular, parece aumentar a tolerância de células imunes (HAYES et al, 2003)..

MÉTODOS

Animais

Foram utilizados 40 ratos machos albinos da linhagem *Wistar*, com 21 dias de vida, procedentes do Biotério do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de

Pernambuco. Os animais foram divididos em dois grupos, o Grupo Hiperlipídico (H) alimentados com dieta hiperlipídica palatável (n=20) e o Grupo Controle (C) alimentados com Labina (n=20), dieta adotada como padrão pelo biotério, por 18 semanas. Os ratos e os comedouros foram pesados em dias alternados. Durante o período de experimentação os animais foram mantidos em gaiolas individuais, em ambiente com temperatura constante de 23±1ºC, com foto período artificial de 12/12 horas, tendo livre acesso à água e ao alimento. Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, e seguiu as normas sugeridas pelo Comitê Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

Dieta Hiperlipídica

A dieta hiperlipídica, previamente padronizada, consistiu de uma mistura de alimentos hipercalóricos descritos e utilizados por Estadella et al (2004); Duarte et al (2006), na seguinte proporção: 15g de ração padrão (Labina), 10 g de chocolate ao leite, 10 g de amendoim torrado e 5g de biscoito maisena, na proporção 3:2:2:1. Destes constituintes, a ração, o amendoim e o biscoito foram moídos, enquanto o chocolate foi derretido em banho Maria. Todos os ingredientes foram misturados até formarem uma massa que foi posteriormente aquecida em estufa e oferecida na forma de péletes. A densidade calórica encontrada para a dieta hiperlipídica palatável foi de 4,8 kcal/100g (24,5% de Lipídeos), enquanto que a dieta padrão apresentou 2,7 kcal/100g (4% de Lipídeos).

Treinamento Físico Moderado

Aos 90 dias de vida, os animais de cada grupo foram subdivididos em 2 grupos cada, formado um total de 4 grupos: Grupo Hiperlipídico (H)(n=10), Grupo Hiperlipídico Treino (HT)(n=10), Grupo Controle(C)(n=10), e Grupo Controle Treino (CT))(n=10). Os animais do grupo treino foram submetidos à natação (8 semanas, 5dias/sem, 45min/dia). Vinte e quatro horas após a última sessão de treino foram coletadas amostras de sangue, através de uma pequena incisão na ponta da cauda dos ratos para em seguida, os animais serem anestesiados e sacrificados. Imediatamente após o sacrifício, os tecidos

adiposos brancos Retroperitoneal, epididimal e visceral, foram retirados, pesados e mantidos a -20ºC para análises posteriores.

Recrutamento de células imunes para o foco infeccioso

O pulmão é um dos órgãos que mais sofre as agressões de infecção, sendo assim, ele é escolhido para as análises da resposta imunológica Vinte e quatro horas após o último treino da oitava semana de treino foi realizada cirurgia de traqueostomia para retirada do lavado bronco alveolar (LBA). Os animal foram anestesiados com uma mistura dos anestésicos cloralose a e uretana, em concentrações respectivas de 0,5 e 12,5%, via intraperitonial, na proporção de 1 mL/100g de peso corporal, para realizar a traqueostomia. Em seguida foi inserida uma cânula plástica acoplada a uma seringa contendo 5mL de solução fisiológica à temperatura ambiente . Várias alíquotas de solução fisiológica foram injetadas, aspiradas e o material recolhido, LBA, foi depositado em tubo estéril. Técnica utilizada por DE CASTRO et al (1997).

Os leucócitos totais do LBA foram contados ao microscópio de luz (utilizando-se objetiva de 40 vezes) a partir de uma amostra diluída na proporção de 1:10 em corante Azul Tripan a 0,05%. Foi utilizada, para isto, uma câmara de Neubauer.

Para contagem diferencial dos leucócitos do LBA, foram confeccionadas lâminas a partir de preparações citocentrifugadas de 200µL do LBA de cada animal diretamente em lâminas histológicas. Para a coloração foi utilizado o Kit Panótico Rápido. Estas lâminas foram lidas ao microscópio óptico em objetiva de 100 vezes, sob imersão.

Taxa de Fagocitose

Todo o procedimento com os macrófagos foi realizado em capela de fluxo laminar objetivando manter o ambiente asséptico para não haver contaminação das culturas de células.

Depois de retirada as alíquotas para a contagem de leucócitos, o LBA recolhido foi centrifugado e o precipitado que corresponde às células foi ressuspendido em meio de cultura RPMI 1640 contendo antibióticos e, em seguida, as células foram contadas em

Câmara de Neubauer. Anterior a contagem de macrófagos foi realizado o preparo e contagem dos fungos (*Saccharomyces cerevisae*). As células (macrófagos e fungos) foram então distribuídas em lâminas de microscopia óptica e incubada a 37ºC, em câmara com atmosfera úmida durante 1 hora.

Em seguida, as lâminas foram lavadas com água destilada e secadas à temperatura ambiente. Para a coloração, foi utilizado o Kit Panótico Rápido. As lâminas foram lidas ao microscópio óptico com objetiva de 100x sob imersão. A taxa de fagocitose foi obtida como percentual de macrófagos que englobam o fungo em uma contagem total de 100 células.

Análise estatística

Na comparação entre os grupos, foi utilizado o teste *t de Student* para dados paramétricos e o teste de *Mann-Whytney* para os dados não paramétricos. Os resultados foram representados em média ± erro padrão. Utilizou-se para isto o *Software* SigmaStat . 2.0. A significância foi definida para $p<0,05$.

RESULTADOS

Peso corporal

Após as 18 semanas de administração das dietas os animais que receberam dieta hipercalórica e hiperlipídica (H) não apresentaram diferença de peso corporal em relação aos que se alimentaram de dieta padrão (C). O peso corporal médio nos 2 grupos foi considerado semelhante, C igual a 273, 6 ± 8.9 g e H igual a 268.7 ± 5.5 g.

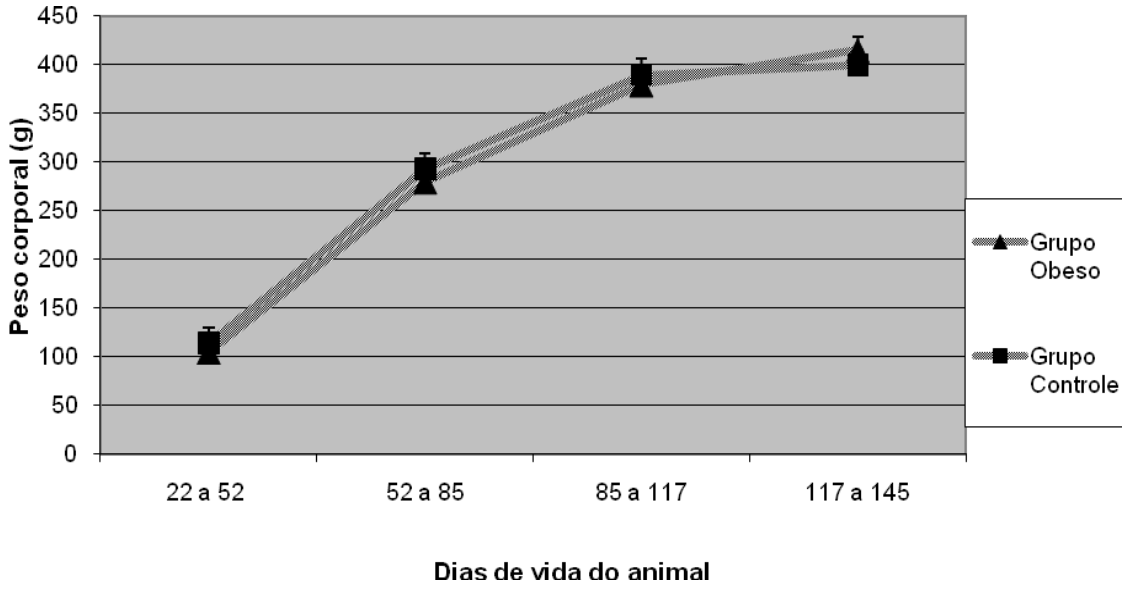


Figura 1- Evolução do peso corporal durante o período de administração das dietas, 18 semanas, nos grupos H (n=20) e C (n=20). Os valores foram expressos em média e erro padrão. Ausência de * significa falta de diferença estatística significante, $p \leq 0,05$

Gordura visceral

Apesar de não causar aumento no peso corporal, o consumo da dieta hipercalórica aumentou consideravelmente a quantidade de gordura visceral, sendo encontrada três vezes mais gordura no grupo hipercalórico (H=14.5 ± 0.8 g; C= 4.8 ± 0.3 g)

.

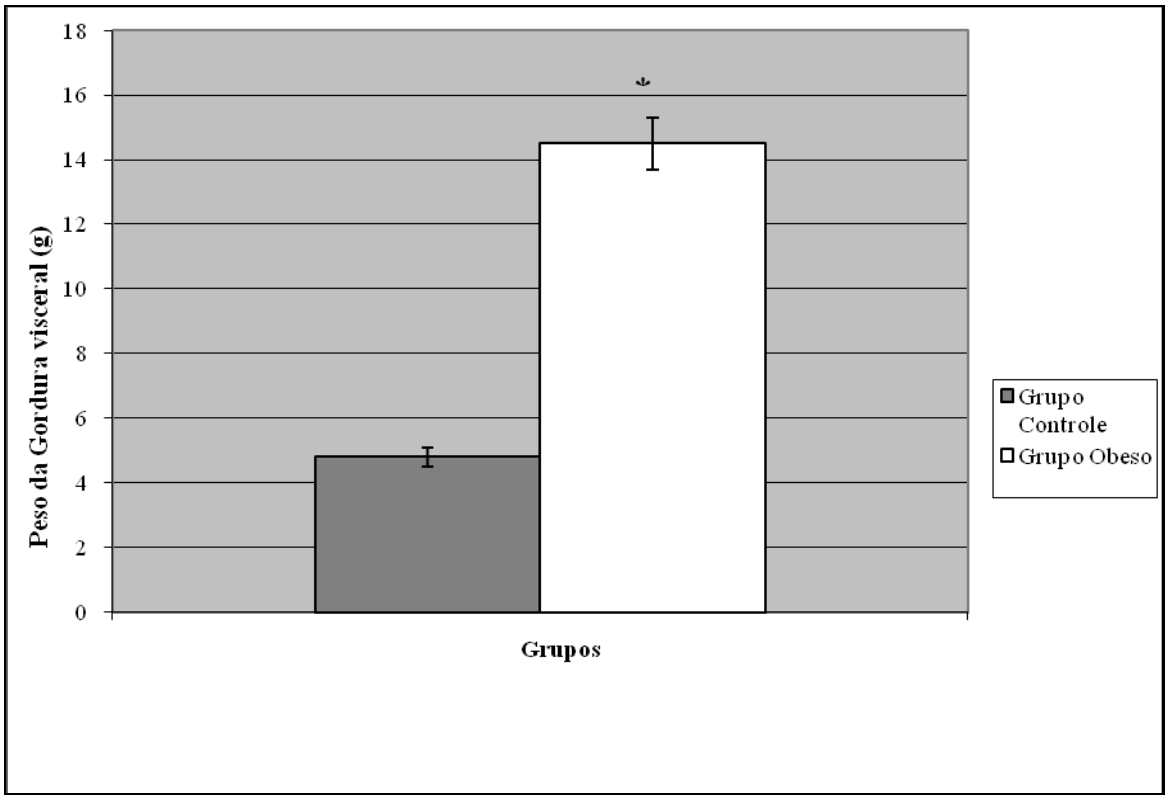


Figura 2- (Gordura visceral após 18 semanas de consumo das dietas nos grupos H (n=20) e C (n=20). Os valores foram expressos em média e erro padrão. Presença de * significa diferença estatísticamente significante, $p \leq 0,05$.

Consumo alimentar e calórico

O consumo alimentar do grupo C (15±1.4g) foi 32% maior que o grupo H (22 ± 3.2 g), p=0.001. Contudo, o consumo calórico diário permaneceu 11 kcal a mais no grupo H.

Leucócitos totais do LBA ($10^3/mm^3$)

Na comparação entre os grupos H,HT,C e CT os valores de leucócitos não apresentaram diferença estatística significante, porém o grupo H tendeu a valores maiores de leucócitos (C= 107.5 ± 3.8; H= 120.0 ± 7.3). Após o treino, os dois grupos aumentaram seus valores de leucócitos do LBA. Estes aumentos foram considerados semelhantes para os dois grupos (CT= 154.5 ± 18.9; HT= 177.5 ± 9.5).

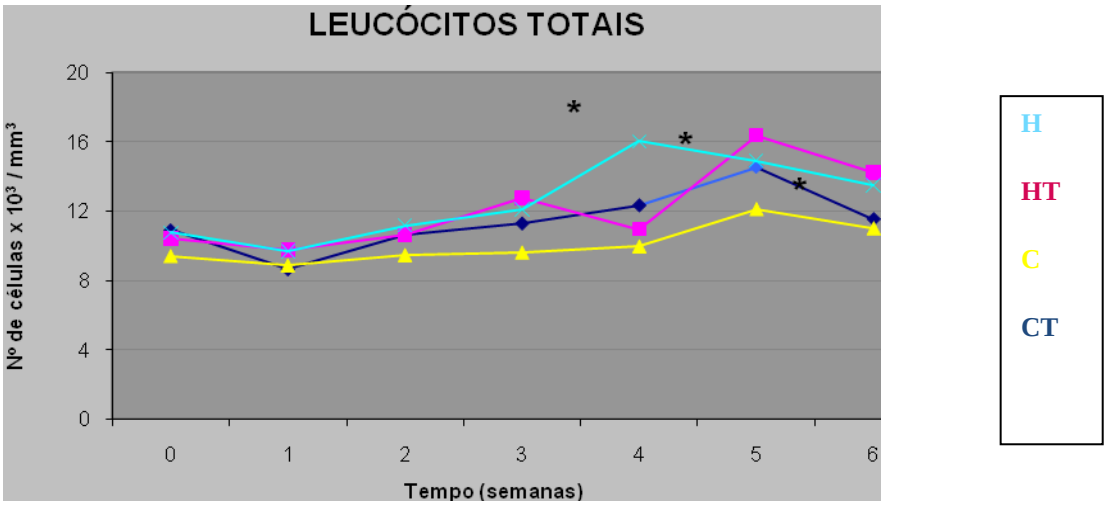


Figura 3. Contagem total de leucócitos em ratos adultos nos grupos: H, HT, C e CT. O sangue foi obtido uma hora antes do início do primeiro treino, e 24 h após a quarta e a oitava semana de treino. Os valores foram expressos em média e erro padrão. Presença de * implica em diferença estatisticamente significante, p ≤0.005.

Leucócitos diferenciais do LBA

Não houve alteração significativa do número absoluto de eosinófilo quando comparados todos os grupos. O grupo H apresentou valores aumentados de linfócitos, sendo que este aumento foi maior no grupo HT (11.0±2.3) (p=0.049).

Os neutrófilos apresentaram aumento relativo para os grupos submetidos à natação, CT (29.0±3.2) e HT(29.0±3.9), (p=0.001). E os resultados destes foram bem mais elevados em relação aos grupos sedentários. Entre os grupos não exercitados, os animais tiveram número de neutrófilos relativamente semelhantes, o grupo H (9.0±4.4) e o C (7.0±1.2), (p=0.028).

O treinamento físico produziu um aumento dos macrófagos nos dois grupos CT (139±11.2), (p=0.014) e esses valores foram mais elevados em comparação com os demais grupos. C (98±3.2), H (93±6.2) e HT (98±3.2), os quais apresentaram resultados equivalentes entre si.

Tabela 1. Médias dos valores absoluto e relativo dos diferentes leucócitos do LBA.

Os resultados foram apresentados em média ± erro padrão do valor absoluto.

Presença de * significa diferença estatística significativa do valor absoluto, p≤0,05.

LEUCÓCITOS DIFERENCIAIS DO LBA								
GRUPOS	**Linfócitos**		**Neutrófilos**		**Eosinófilos**		**Macrófagos**	
	Relativo (%)	**Absoluto (10^3/mm^3)**	**Relativo (%)**	**Absoluto (10^3/mm^3)**	**Relativo (%)**	**Absoluto (10^3/mm^3)**	**Relativo (%)**	**Absoluto (10^3/mm^3)**
C	**3**	**3**±0.56	**6**	7±1.2	**0.3**	**0.375**±0.19	**91**	**98**±3.2
H	**7**	**9***±3.2	**16**	**9***±4.4	**0.1**	**0.125**±0.13	**78**	**93**±6.2
CT	**2**	**4**±0.43	**17**	**29**±3.2	**0.4**	**0.8**±0.44	**80**	**139*±11.2**
HT	**6**	**11***±2.3	**16**	**29***±3.9	**0.5**	**0.95**±0.44	**78**	**98**±3.2

Taxa de Fagocitose

Entre os animais que receberam dieta padrão, os animais treinados, grupo CT, apresentaram aumento significativo da taxa de fagocitose (CT= 51.0 ± 5.1, p=0.003). Já os animais alimentados com dieta rica em calorias, quando submetidos ao treinamento físico, apresentaram aumento significativo na taxa de fagocitose (HT= 34.9 ± 3.9). Nos animais não treinados, as taxas de fagocitose não apresentaram diferença significativa (C = 30.3 ± 3.2; H = 23.5 ± 2.5).

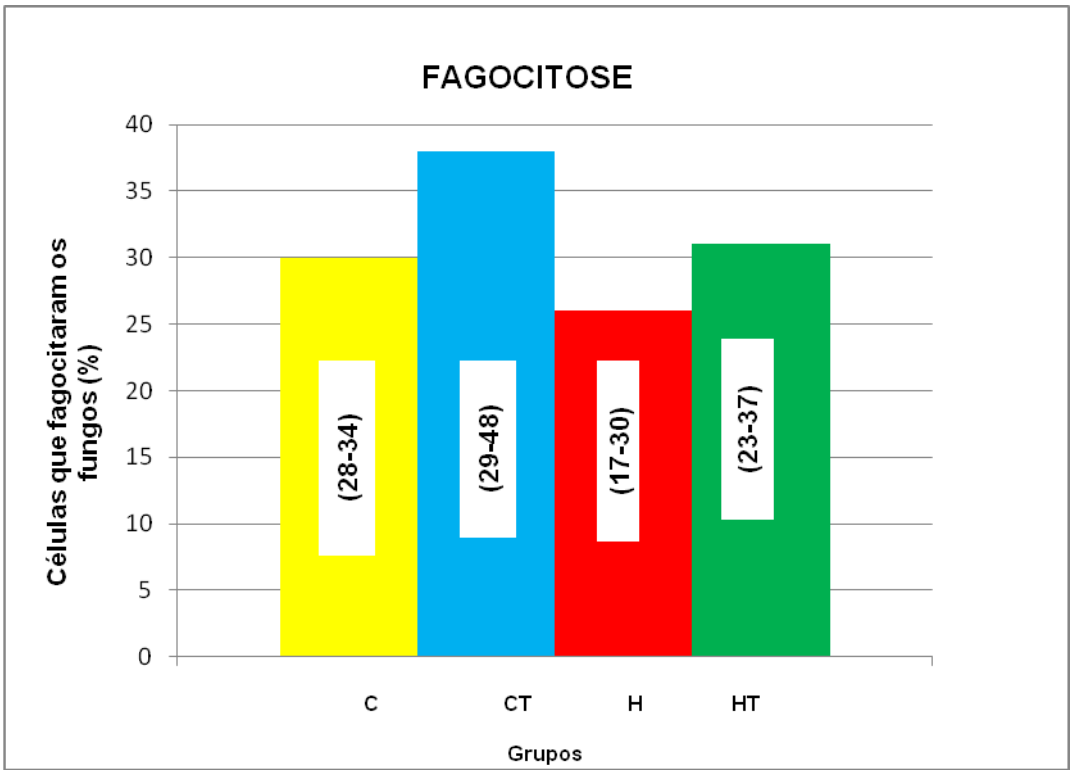


Figura 5. Taxa de Fagocitose. Resultados mostrados em média ± erro padrão. Ausência de * significa falta de diferença estatística significante, $p \leq 0.05$.

Produção de Óxido Nítrico (NO) por macrófagos alveolares

Produção de NO intergrupos estimulados ou não com LPS, avaliada durante todo o período de treino (T0-T8). Valores (µmols/mL) expressos em média e erro padrão. Os grupos que não foram tratados com LPS constituíram-se da seguinte forma: Controle sem LPS (C S/LPS), Controle Treino sem LPS (C S/LPS), Hiperlipídico sem LPS (H S/LPS), Hiperlipídico Treino sem LPS (HT S/LPS). Na comparação intergrupos, em relação aos que não foram estimulados com LPS, o CT liberou uma quantidade de NO mais elevada quando comparado ao C. Entretanto entre os grupos H e HT, a produção foi menor em HT que em H. Contudo entre os grupos H e C, a produção de NO foi praticamente semelhante (FIGURA 6).

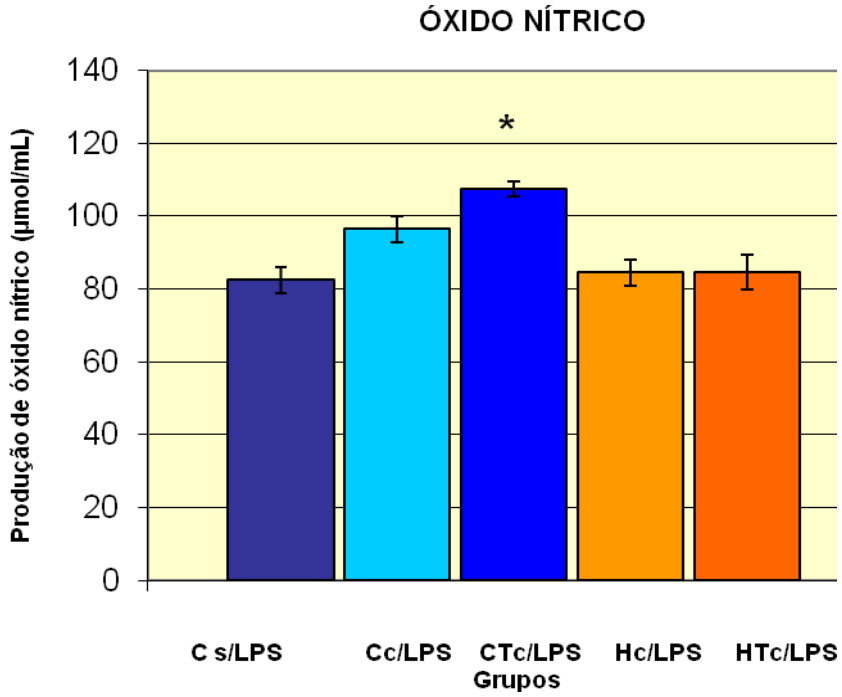


Figura 6. Produção de óxido nítrico de macrófagos alveolares segundo a desnutrição e o treinamento físico. Grupos Nutrido sem LPS (C S/LPS), Nutrido Treino com LPS (CT C/LPS), Desnutrido com LPS (H C/LPS) e Desnutrido Treino com LPS (HT C/LPS). Valores expressos em média ± erro padrão. ANOVA, seguido de Tukey. *=p<0,05, C S/LPS x CT C/LPS.

DISCUSSÃO

No presente estudo, utilizou-se modelo de obesidade induzida por dieta hiperlipídica imposta após o período de aleitamento, por 18 semanas. O peso corporal do grupo que utilizou dieta hipercalórica não modificou mesmo após o período de consumo. Outros autores também encontraram resultados semelhantes (FRANCO, 2009; ESTADELLA et al, 2004, 2005). Porém, alguns estudos apresentaram resultados diferentes, com aumento ou diminuição do peso corporal no grupo alimentado com dieta rica em calorias (PAULI, 2009; DUARTE, 2006; BERNARDES, 2004; SANTOS, 2007). Em todos esses trabalhos, o consumo da dieta foi acompanhado em períodos diferentes e ainda, há dietas que utilizaram diferentes tipos de ingredientes em sua confecção, estes podem ser os motivos para tais discordâncias.

Na presente pesquisa o grupo H apresentou o triplo da gordura visceral em comparação a quantidade encontrada no grupo C. O aumento da adiposidade também foi encontrado por vários autores que utilizaram dieta hipercalórica (GONÇALVES et al, 1990; BELLAVER et al, 2001; GAÍVA et al, 2001; ESTADELLA et al, 2004,2005; DUARTE et al, 2006).

Aliados à manutenção do peso corporal e aumento da gordura visceral, os animais obesos consumiram menos dieta. Os estudos de Bernardes (2004) e Franco (2009) reforçam este resultado, enquanto o estudo de Eguchi (2008) não apresentou modificação no consumo alimentar entre os grupos.

Os processos imunológicos envolvidos na defesa do organismo são afetados pelo estado nutricional (WOMACK et al, 2007). Segundo Alves (2006), essas repercussões imunológicas, mais a complexa interação que existe entre elas, levam o indivíduo obeso a modificar a resposta imune, tanto na imunidade inata como na imunidade adquirida

Ao sistema imune compete as defesas do organismo e os leucócitos são as células efetoras. A contagem total e diferencial dessas células no sangue periférico pode demonstrar, de forma indireta, o seu estado de ativação. No presente estudo, o número total de leucócitos foi comparado entre os grupos, segundo o estado nutricional e o treinamento físico. No grupo H, apesar de não ter apresentado diferença estatística significativa na contagem total de leucócitos, ocorreram modificações na quantidade de células específicas, tendendo a valores s maiores de leucócitos totais. Após o treino, os dois grupos aumentaram seus valores de leucócitos do LBA.

O treinamento na idade adulta foi benéfico uma vez que, proporcionou aumento na contagem total de leucócitos tanto para os animais do grupo C como para os animais do grupo H. Essa modificação do número total de leucótos em resposta ao treino, corrobora com os estudos de Kim et al (2003) com ratos submetidos ao treino moderado durante 8 semanas, acarretaram alteração na concentração de células imunes.

Na contagem diferencial de leucócitos, os animais do grupo H tinham os valores de linfócitos maiores que os do grupo HT. Os neutrófilos apresentaram aumento relativo para os grupos submetidos à natação, CT e HT.. E os resultados destes foram bem mais

elevados em relação aos grupos sedentários. Entre os grupos não exercitados, os animais do grupo H tiveram número de neutrófilos um pouco mais elevado em relação ao grupo C.

O treinamento físico produziu um aumento dos macrófagos no dois grupos CT ($p=0.014$) e HT ($p=0.001$), aumento este considerado similar para os dois grupos. Para os não treinados, grupos C e H, não foram verificadas modificação dos valores de macrófagos. Tais achados também foram descritos por Kim et al (2003) e por Pedersen e Hoffman-Goetz (2000).

O impacto da dieta hipercalórica e hiperlipídica, ao longo de 18 semanas, revelou alterações na contagem total e diferencial de leucócitos, assim como na atividade e função destas células. A obesidade reduz a imunidade em geral, sobretudo, modificando os padrões das respostas imunológicas, comprometendo a função dos macrófagos alveolares.

Os adipócitos secretam leptina em proporção direta a massa de tecido adiposo, bem como o estado nutricional (FAIN et al, 2004; WAJCHENBERG, 2000). Em estados de normalidade, a Lp atuaria estimulando a liberação de citocinas pró-inflamatórias por parte dos monócitos; citocinas que produzem uma estimulação dos linfócitos T (ALVES, 2006).

Quando existe uma alteração destes processos, existe uma proliferação linfocitária anormal com uma redução na capacidade funcional dos linfócitos (MARTÍ; MARCOS; MARTÍNEZ, 2001), por ser a Lp um modulador da ativação dos mesmos (SÁNCHEZ-MARAGALET et al, 2003). Esta susceptibilidade aumentada é causada por alterações nas sub-populações de células T, havendo um desequilíbrio entre as respostas Th1 e Th2, com uma diminuição e aumento respectivamente (MUÑOZ; MAZURE; CULEBRAS, 2004).

Com relação à função dos fagócitos, a dieta rica em gorduras reduziu a taxa de fagocitose em ratos adultos. Nesse estudo a atividade fagocítica e macrófagos alveolares de ratos treinados foi alterada, evidenciando valores mais elevados para o grupo CT. Estes resultados discordam dos de Woods et al (2003) ao realizarem um estudo com

macrófagos peritoniais de ratos treinados. Por outro lado, concordam com os achados de Bacurau et al (2000) ao verificarem aumento da atividade fagocítica de macrófagos peritoniais de ratos após treino moderado em tapete rolante (8semanas,5dias/sem,60min/dia a 60% do VO_2 máx). Nascimento et al (2004) utilizando outro tipo de treinamento físico, animais submetidos à natação (45min/dia, durante 6 semanas), também observou aumento na atividade fagocítica de macrófagos alveolares (estimulados com fungos), resultados semelhantes foram encontrados nos achados de Porto (2007).

O treinamento promoveu aumento dessa taxa nos grupos de animais C e H. Existem fortes evidências de que o exercício físico promove melhorias nos mecanismos fisiológicos e benefícios à saúde (NIEMAN, 2000, sobretudo o treinamento físico de intensidade moderadaque induz melhora na dinâmica e na função de células imunes (PEDERSEN e HOFFMAN-GOETZ, 2000). O exercício físico pode promover alterações transitórias e persistentes nos sistemas fisiológicos dependentes da intensidade, duração, freqüência e esforço realizado. Essas alterações quando transitórias retornam aos valores basais em 24 h após o esforço (PEDERSEN e HOFFMAN-GOETZ, 2000).

No sistema imune, dois mecanismos parecem estar associados ao exercício físico regular: alteração nas populações e alteração na função de células imunocompetentes (PEDERSEN e HOFFMAN-GOETZ, 2000). Segundo Nieman (2000), os efeitos positivos do exercício físico crônico moderado no sistema imune são apenas percebidos quando este sistema é ativado. Contudo, em longo prazo, considera-se proteção à infecções, imunodepressão induzida por estresse e por doenças crônico-degenerativas (PEDERSEN e HOFFMAN-GOETZ, 2000).. Bacurau et al (2000) demonstraram que o treinamento físico pode retardar a proliferação de tumores induzidos quimicamente, tumores implantados e tumores espontâneos.

Estes dados sugerem fortemente que o treinamento físico como modulador da resposta imune atenua significativamente a intensidade das respostas orgânicas, uma vez que alterou os parâmetros imunes avaliados, dando algum tipo de proteção imunitária. As células do sistema imunológico parecem apresentar mecanismos adaptativos que permitem a melhoria da sua funcionalidade em resposta ao exercício físico regular e de intensidade moderada.

Os estudos que relacionam os efeitos de uma dieta hipercalórica e hiperlipídica sobre os mecanismos de defesa orgânicos são escassos, fazendo-se necessário mais estudos complementares para avaliar ou esclarecer aspectos que não foram contemplados nesta pesquisa.

CONCLUSÃO

A dieta hipercalórica e hiperlipídica utilizada pela presente pesquisa foi útil em induzir obesidade, uma vez que aumentou consideravelmente o teor de gordura visceral. Diante dos resultados podemos observar as alterações maléficas que a obesidade pode causar ao sistema imunológico e ao metabolismo, desde mudanças na quantidade de células imunológicas ao comprometimento da função destas. Como se pode perceber, apesar da diversa gama de estudos existentes, a relação da obesidade com componentes específicos do sistema imune ainda é bem controversa. Sugere-se que estudos adicionais em relação aos efeitos da obesidade em resposta ao exercício físico e aos parâmetros imunológicos sejam realizados.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Pós-graduação em Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco e ao Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami pela oportunidade de realização do presente estudo.

COLABORADORES

S.M.M.S. PORTO - participou de todas as etapas do projeto de pesquisa.

K.M. FERREIRA E SILVA- colaborou com o desenvolvimento da pesquisa e a análise dos resultados.

R.R. DA SILVA - colaboraram com o projeto e a análise dos resultados.

V.O. SANTANA - colaborou com o desenvolvimento do projeto

P. DELANO colaborou como o desenvolvimento do projeto.

CMMB DE CASTRO orientou o projeto de pesquisa

REFERÊNCIAS

1. ALVES, M.N.R. Os efeitos da obesidade na resposta imune. **Ver. Bras. Nut. Clin**., 2006, v. 21, n.4, p. 316-319.tos
2. BACURAU, RFP et al. Effect of a moderate intensity exercise training protocol on the metabolism of macrophages and lymphocytes of tumour-bearing rats. **Cell Biochem.Funct**, 2000, 18,249-258.
3. BELLAVER, L; VITAL, M.A.; ARRUDA, A.M.; BELLAVER, C. Efeitos da dietilpropiona, energia da dieta e sexso sobre o ganho de peso corporal, peso dos órgãos e deposição de tecidos em ratos. **Arq. Bras. de End. e Met.,** 2001, 45(2): 167-172.
4. BERNARDES D. et al. Effects of a high-fat diet and swimming moderated training on post exercise metabolism in male adults rat. **Rev Bras Educ Fís Esp.** 2004; 18(2):191-200
5. BRENNER I et al. Stress hormones and the immunological responses to heat and exercise. **Int J Sports Med,** 1998**,** 10:1340-143.
6. BRENNER I et al. Impact of three different types of exercise on components of the inflammatory response**. Eur J Appl Physiol Occup Physiol,** 1999**, 80**(5): 452-60.
7. CAMPFIELD, L.A., et al. Recombinant mouse OB protein: evidence for a peripheral signal linking adiposity and central neural networks. **Science.** 1995; 269(5223): 546-9.
8. CHANDRA, R.K.; KUTTY, K.M. Immunocompetence in obesity. **Acta Paediatr. Scand.,** 1980, v.69, p. 25-30.
9. COSTA, J.V.; DUARTE, J.S. Tecido adipose e adipocinas. **Acta Med. Port**., 2006, v. 19, p. 251-256.
10. DE CASTRO, CMMB; DE CASTRO, RM; ANDRADE, AD; BRANDT, CT. LPS bacteriano: um medidor de inflamação. **Fac. Med. Univ. Fed. Pernamb**., 1997, v. 42, n.2, p. 78-83.
11. DIEMEN, V.V. TRINDADE, E.N. TRINDADE, M.R.M. Experimental model to induce obesity in rats. **Acta Cir Bras**, v. 21, n. 6, p. 425-429, 2006.

12. DUARTE, A.C.G.O. et al. Dieta hiperlipídica e capacidade secretória de insulina em ratos. **Rev Nutr**, v. 19, n. 3, p. 341-348, 2006.
13. DUCY, P. et al. Leptin inhibits bone formation through a hypothalamic relay: a central control of bone mass**. Cell.** 2000; 100(2):197-207.
14. EGUCHI, R. et al. Efeitos do exercício crônico sobre a concentração circulante da leptina e grelina em ratos com obesidade induzida por dieta. **Ver. Bras. Med. Esporte,** 2008, 14(3): 182-87.
15. ESTADELLA, D. et al. Effect of Palatable Hyperlipidic Diet on Lipid Metabolism of Sedentary and Exercised Rats. **Basic nutri invest**, v. 20, p. 218-224, 2004.
16. ESTADELLA, D. Dieta palatável hiperlipídica modifica o metabolism cerebral e o tecido adipose em ratos, dependendo da idade e do tempo de tratamento. São Paulo; s.n; 2005. (112)p. Apresentada a Universidade Federal de São Paulo. **Escola Paulista de Medicina.** Curso de Nutrição para obtenção do grau de Doutor.
17. FAIN, J.N. et al. Comparison of the release of adipokines by adipose tissue, adipose tissue matrix, and adipocytes from visceral and subcutaneous abdominal adipose tissues of obese humans. **Endocrinology,** 2004, v. 145, p. 2273-2282.
18. FASOL, R. et al. The influence of obesity on perioperative morbidity: retrospective study of 502 aortocoronary bypass peration. **Thorac. Cardiovasc. Surg**., 1992, v. 40, p. 126-129.
19. FISBERG, M. Primeiras palavras: uma introdução ao problema do excesso de peso. In: **Atualização em obesidade na infância e na adolescência.** São Paulo: **Atheneu**, cap. I, p. 1-9, 2004.
20. FRANCO, L.D.P.; CAMPOS, J.A.D.B.; DEMONTE, A. Teo.r lipídico da dieta, lipídios séricos e peso corporalem ratos exercitados. **Rev. De Nut. ,** 2009, v. 22, p. 359-366.
21. GAÍVA, M.H.G.; COUTO, R.C.; OYAMA, L.M. Polyunsaturated fatty acid-rich diets: effect on adipose tissue metabolism in rats**. Br J Nutr**, v. 86, p. 371, 2001.
22. GONÇALVES, E.L.; WAITZBERG, D.L.; BEVILACQUA, R.G.; BEVILACQUA, L.R. Composição corpórea em diferentes condições nutricionais: estudo experimental. **Ver. Paul. Med**., 1990; 108(3): 125-33.

23. GOTTSCHLICH, M.M.; MAAYES, T.; KHOURY, J.C.; WARDEN, G.D. Significance of obesity on nutritional, immunologic, hormonal and clinical outcome parameters in burns. **J. AM. Diet. Assoc.,** 1993, v. 93, p. 1261-1268.
24. HAYES, S.C. et al. Immunological changes after cancer treatment and participation in an exercise program. **Med. Sci. Sports Exerc**. , 2003, 35(1):1-9.
25. KEAST, D.; CAMERON, K.; MORTON, A.R. Exercise and the immune response. **Sports Med**., 1988, v. 5: 248-267.
26. KERSHAW, E.E.; FLIER, E.S. Adipose tissue as an endocrine organ. **J. Clin. Endocrinol. Metab**. , 2004, v. 89, n. 6, p. 2548-2556.
27. LEANDRO, C. Influência do treino de resistência moderado na resposta imunológica de ratos submetidos à contenção aguda. **Tese de Doutorado, Porto, Portugal,** 2005.
28. MARTÍ, A.; MARCOS, A.; MARTINEZ, J.A. Obesity and immune function relationships. **Obes. Reviws**, 2001, v. 2, p. 131-140.
29. MOULTON, M.J. et al. Obesity is not a risk factor for significant adverse outcomes after cardiac surgery. **Circulation.**1994, v. 94, p. 87-92.
30. MUÑOZ, M.; MAZURE< R.A.; CULEBRAS, J.M. Obesidady sistema immune. **Nutr. Hosp**., 2004; v. 19;, p. 87-92.
31. NASCIMENTO, E. Efeitos da L-Glutamina ou do treinamento físico moderado sobre parâmetros imunológicos em ratos submetidos ou não a estresse agudo. **Univ. Federal de Pernambuco.** Recife, 2004.
32. NIEMAN, D.C. et al.Influence of obesity on immune function. **J. Am. Diet. Assoc**, 1999, v. 99, p. 294-299.
33. NIEMAN, D.C. et al. Influence of obesity on immune function. **Int.J. Obes.** 1996, v. 20, p. 353-360.
34. PAULI, J.R.; ROPELLE, E.R.; CINTRA, D.E.; SOUZA, C.T. Efeitos do exercício físico na expressão e atividade da AMPKα em ratos obesos induzidos por dieta rica em gordura. **Ver. Bras.Med. Esporte**, 2009, v. 15, n. 2, p. 98-103.
35. PEDERSEN BK; HOFFMAN-GOETZ, L. Exercise and the immune system regulation, integration and adaptation. **Psic Rev**, 2000, 80 (3): 1055-1081.
36. PORTO, S.M.M.S. Impacto da desnutrição neonatal e do treinamento físico moderado em mecansimos de defesa de ratos adultos. **Universidade Federal de Pernambuco,** 2006, Recife.

37. SÁNCHEZ-MARAGALET, V. et al. Role of leptin as an immunomodulator of blood mononuclear cells: mechanisms of action. **Clin. Exp. Immunol**., 2003, v. 133, n. 1, p. 11-19.
38. SANTOS, R.S.; VIANNA, L.M. Dieta hipercalórica agrava a hipertensão arterial em ratos espontaneamente hipertensos. **Nutrire Ver. Soc. Bras. Aliment. Nutr**., 2007; 32(1): 1-9.
39. STALLONE, D.D. The influence of obesity and is treatment on the immune system. **Nutr. Rev.,** 1994, v. 52, p. 37-50
40. TRAYHURN, P.; WOOD, I.S. Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. **Br. J. Nutr**, 2004, v.92, n.3, p. 347-355..
41. WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Overweight and obesity - a new nutrition emergency? Introduction, **SCN News,** 2005 n. 29, 3-4.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar dos animais que receberam dieta hipercalórica e hiperlipídica consumirem menos alimentos, ainda assim, ingeriram mais calorias devido ao aporte energético da dieta. É importante atentar que nem sempre um peso corporal compatível se traduz em quantidades aceitáveis de gordura corporal

A dieta hipercalórica utilizada foi útil em promover obesidade visceral nos ratos, uma vez que a gordura dessa região foi estatisticamente superior nos ratos alimentados com a dieta hipercalórica. Somando-se a este resultado, esta dieta também aumentou os níveis triglicerídeos, sobretudo nos animais treinados. Embora não tenha havido alterações nos níveis de glicose e cloesterol total.

Neste particular, o efeito negativo da obesidade sobre o sistema imune fica claro quando os animais obesos são incapazes de obter o mesmo aumento no recrutamento de neutrófilos, além de não conseguirem estimular um reforço na fagocitose por parte dos macrófagos alveolares.

Outro componente alterado pela obesidade é a microbiota normal do organismo, a qual apresenta modificações tanto no padrão quanto no número de bactérias.

As alterações nutricionais caudadas pelo consumo excessivo de calorias e lipídios, com consequente obesidade, são conhecidas como estímulo para diversos tipos de alterações maléficas para o organismo. Dentre estas podemos destacar o comportamento dos componentes da resposta imunológica e de análises bioquímicas.

O treinamento físico moderado não teve efeito sobre a microbiota dos animais do grupo controle. Elevou o número de leucócitos tanto nos animais do grupo C e H.

Nos animais treinados dos dois grupos, houve aumento considerável dos neutrófilos. No grupo CT, a quantidade de macrófagos foi significativa, essa situação não foi encontrada nos demais grupos. Enquanto a de eosinófilos não apresentou modificação entre os grupos. E ainda, o treino melhorou a função dos macrófagos com normalização da atividade fagocítica, porém, não da produção de óxido nítrico.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, A.K.; JANEWAY, C.A.J.R. Immunology: improving on nature in the twenty-first century. **Cell,** 2000, v. 1000, p. 129-138.
- ACHTEN J, JEUKENDRUP AE. Optimizing fat oxidation through exercise and diet. **Nutrition.** 2004; 20(7-8): 716-27
- AHIMA, R.S.Regulation of neuronal and glial proteins by leptin: implications for brain development. **Endocrinology.** 1999, 140(6): 2755-62.
- AHIMA, R.S.; FLIER, J.S. Adipose tissue as an endocrine organ. **Trends Endocrinol Metab**. 2000, 8:327-32.
- AHREN, B.; HAVEL, P.J. Leptin inhibits insulin secretion induced by cellular cAMP in a pancreatic B cell line (INS-1 cells). **Am J Physiol**. 1999; 277(4 Pt 2): R959-66
- ALVES, M.N.R. Os efeitos da obesidade na resposta imune. **Ver. Bras. Nut. Clin**, 2006, v. 21, n.4, p. 316-319.tos
- ARENZ S, VON KRIES R. Protective effect of breastfeeding against obesity in childhood. Can a meta-analysis of observational studies help to validate the hypothesis? **Adv Exp Med Biol**. 2005; 569:40-8.
- AXEN, V.K.; DIKEAKOS, A.; SCLAFANI, A. High dietary fat promotes Syndrome X in nonobese rats. **Journal of Nutrition.** 2003; 133:2244-9.
- BACURAU, RFP et al. Effect of a moderate intensity exercise training protocol on the metabolism of macrophages and lymphocytes of tumour-bearing rats. **Cell Biochem.Funct**, 2000, 18,249-258.
- BAGNASCO, M. et al. Evidence for the existence of distinct central appetite, energy expenditure, and ghrelin stimulation pathways as revealed by hypothalamic site-specific leptin gene therapy. **Endocinol.** 2002, 143(11): 4409-21.
- BALCÃO, V.M. et al. Modification of butterfat by selective hydrolysis and interesterification by lipase: Process and product characterization. **J Am Oil Chem Soc**. 1998; 75(10):1347-58.
- BARZILAY, J.I.; ABRAHAM, L.; HECKBERT, S.R. et al. The relation of markers of inflammation to the development of glucose disorders in the elderly: the Cardiovascular Health Study. **Diabetes.** 2001**,** 50: 2384.

- BELLAVER, L; VITAL, M.A.; ARRUDA, A.M.; BELLAVER, C. Efeitos da dietilpropiona, energia da dieta e sexso sobre o ganho de peso corporal, peso dos órgãos e deposição de tecidos em ratos. Arq. Bras. De End. E Met., 2001, 45(2): 167-172.
- BELTOWSKI, J. Apelin and vistatin: unique beneficial adipokines upregulated in obesity? **Med Sci Monit**,
- 2006, 12(6):112-9.
- BERGH, A.H.; SCHERER, P.E. Adipose tissue, inflammation and cardiovascular disease. **Circ. Res**. 2005, 96:939-949.
- BERNARDES D. et al. Effects of a high-fat diet and swimming moderated training on post exercise metabolism in male adults rat. **Rev Bras Educ Fís Esp.** 2004; 18(2):191-200.
- BIRCH, L.L.; FISHER, J.O. Development of eating behaviors among children andadolescents. **Pediatrics**. 1998; 101:539–549
- BJORKMAN, T. Effect of Trichoderma colonization on auxin-mediated regulation of rootelongation. **Plant Growth Regulation**. 2004, 43: 89–92.
- BLANNING, A.K. et al. The effect of exercising to exhaustion at different intensities on saliva immunoglobulin A, protein and electrolyte secretion**. Int J Sports Med**, 1998, 19(8): 547-552.
- BORSHEIM E, LONNROTH P, KNARDAHL S, JANSSON PA. No difference in the lipolitic response to beta‐adrenoceptor stimulation in situ but a delayed increase in adipose tissue blood flow in moderately obese compared with lean men in the postexercise period. **Metabolism** 2000; 49: 579‐87.
- BOUCHARD, C. Physical activity and obesity. **Human Kinetics**, Champaingn, 2000.
- BOUCHARD C. Genetics of obesity: overview and research direction. In: BouchardC, ed. **The Genetics of Obesity**. Boca Raton; 1994:223–233.
- BOUCHARD, C.; PERUSSE, L. Genetics of Obesity**. Annual Review of Nutrition**. 1993, V. 13, p.337-354
- BOVILL, E.G. et al. White blood cell counts in person 65 years or more from the Cardiovascular Health study: correlations with baseline clinical and demographiccharacteristics. **Am. J. Epidemiol.** 1996, v. 143, p. 1107-1115.

- BRANSON, R. et al. Binge eating as a major phenotype of melanocortin 4 receptor gene mutations. **N Engl J Med**. 2003; 348:1096–1103.
- BRAY, G.A. Dietary fat intake does affect obesity. **Am J Clin Nutr** 1998; 68:1157-1173.
- BRENNER I et al. Stress hormones and the immunological responses to heat and exercise. **Int J Sports Med,** 1998**,** 10:1340-143.
- BRENNER I et al. Impact of three different types of exercise on components of the inflammatory response**. Eur J Appl Physiol Occup Physiol,** 1999**, 80**(5): 452-60.
- BUETTNER R, SCHÖLMERICH J, BOLLHEIMER LC. High-fat diets: modeling the metabolic disorders of human obesity in rodents. **Obesity.** 2007; 15: 798-808
- BUREAU, F. et al.. Comparison of inulin with urea as dilutional markers of bronchoalveolar lavage in healthy and heaves-affected horses. **Veterinary Research**,, 1997, v. 32, p. 145-154.
- BURTON, G.R.W.; ENGELKIRK, P.G. **Microbiologia: para as ciências da saúde**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005, p. 353.
- CAMPFIELD, L.A., et al. Recombinant mouse OB protein: evidence for a peripheral signal linking adiposity and central neural networks. **Science.** 1995; 269(5223):546-9.
- CANCELLO, R.; CLÉMENT, K. Is obesity an inflammatory illness? Role of low-grade inflammation and macrophage infiltration in human white adipose tissue. **BJOG**, 2006, 113:1141-1147.
- CARVALHO, P.O. et al. Aplicação de Lipases Microbianas na Obtenção de Concentrados de Ácidos Graxos Poliinsaturados. **Quim Nova,** 2002; 26(1): 75-80.
- CHANDRA, R.K.; KUTTY, K.M. Immunocompetence in obesity. **Acta Paediatr. Scand.,** 1980, v.69, p. 25-30.
- CHANDRA, RK. Nutrition and the immune system: an introduction. **American Journal of Clinical Nutrition**, 1997, 66(2): 460S-463S.
- CHEIK, N. Efeitos de diferentes intervenções nutricionais e do exercício físico sobre a regulação hormonal da ingestão alimentar e do metabolismo lipídico em ratos [tese]. São Carlos: **Universidade Federal de São Carlos**; 2005.
- CHOW, A.W. Infections of the oral cavity, neck, and head. In: MANDELL, G.L.; BENNETT, J.E.; DOLIN, R. Principles and Practice of Infectious diseases. 5. ed. **Philadelphia:** Churchill Livingstone, 2000. p. 689-701.

- CHRISTI A.W. et al. Mechanism of anti-lipolytic action of acipimox in isolated rat adipocytes. **Diabetologia.** 1996; 39(1):45-53.
- CHU, N.F.et al. Plasma leptin concentrations and obesity in relation to insulin resistance syndrome components among school children in Taiwan: the Taipei Children Heart Study. **Int J Obes Relat Metab Disord**. 2000; 24:1265–1271.
- CIANFLONE, K.; XIA, Z.; CHEN, L.Y. Critical review of acylation-stimulating protein physiology in humans and rodents. **Biochim Biophys Acta.** 2003; 1609(2):127-43.
- CINTI, S.; MITCHELL, G.; BARBATELLI, G.; MURANO, I.; CERESI, E. et al. Adipocyte death defines macrophage localization and function in adipose tissue of obese mice and humans. **J Lipid Res.**2005, 46:2347-55.
- CIOFFI, J.A, et al. Novel B219/OB receptor isoforms: possible role of leptin in hematopoiesis and reproduction. **Nat Med.** 1996; 2(5):585-9.
- CLEMENT, K. et al. A mutation in the human leptin receptor gene causes obesity and pituitary dysfunction. **Nature.** 1998; 392(6674):398-401.
- CLEMENT, K. e FERRE, P. Genetics and the pathophysiology of obesity. **Pediatr Res**. 2003; 53:721–725.
- COATMELLEC-TAGLIONI, G.; DAUSSE, J.P.; RIBIE`RE, C.; GIUDICELLI, Y. Hypertension in cafeteria-fed rats: alterations in renal a2-adrenoceptor subtypes. **Am J Hypertens.** 2000, v. 13, p. 529-534.
- . COMUZZIE, A.G., et al. Serum levels of acylation stimulating protein (ASP) show evidence of a pleiotropic relationship with total cholesterol, LDL, and triglycerides and preliminary evidence of linkage on chromosomes 5 and 17 in Mexican Americans. **Obes. Res.** 2001; 9:103S
- CONWAY, B.; RENÉ, A. Obesity as a disease: no lightweight matter. **Obes. Ver**. 2004, v. 5, n. 3, p. 145-151.
- COPPACK SW. Pro-inflammatory cytokines and adipose tissue. **Proc. Nutr. Soc.** 2001; 60(3): 349-56.
- COSTA, J.V.; DUARTE, J.S. Tecido adipose e adipocinas. **Acta. Med. Port**., 2006, v. 19, p. 251-256.

- COSTA, R.P., SILVA C.C. Doenças Cardiovasculares. In: Cuppari L. Guias de Medicina Ambulatorial e Hospitalar / Nutrição Clínica no Adulto. Barueri: **Manole**, 2002. p.263-88.
- COUTINHO, J.G., GENTIL, P.C., TORAL, N. A desnutrição e obesidade no Brasil: o enfrentamento com base na agenda única da nutrição. **Cad. Saúde Pública**. 2008, v. 2, p. 332-340.
- CUMMINGS, D.E. et al. Weigle DS, Frayo RS, Breen PA, Ma MK, Dellinger EP, Purnell JQ. Plasma ghrelin levels after diet-induced weight loss or gastric bypass surgery**. N Engl J Med .**2002, 346: 1623-30.
- CURI, R. et al. Entendendo a Gordura – Os Ácidos Graxos. **Manole**, 2002. 580p.
- CURSIEFEN, C.; CHEN, L.; BORGES, L.P.; JACKSON, D. et al. VEGF-A stimulates lymphangiogenesis and hemangiogenesis in inflammatory neovascularization via macrophage recruitment. **J Clin Invest**. 2004, 113:1040-50.
- DANESH, J.. C-Reactive Protein and Other Circulating Markers of Inflammation in the Prediction of Coronary Heart Disease. **N Engl J Med** 2004; 350:1387-1397.
- DARBY, I.; CURTIS, M. Microbiology of periodontal disease in children and young adults. **Periodontology**. 2001, v. 26, n. 1, p. 33-53.
- DATE, Y. et al. Ghrelin is present in pancreatic alpha-cells of humans and rats and stimulates insulin secretion. **Diabetes**. 2002, 51(1): 124-9.
- DE CASTRO, CMMB; DE CASTRO, RM; ANDRADE, AD; BRANDT, CT. LPS bacteriano: um medidor de inflamação. **Fac. Med. Univ. Fed. Pernamb**., 1997, v. 42, n.2, p. 78-83.
- DIEMEN, V.V. TRINDADE, E.N. TRINDADE, M.R.M. Experimental model to induce obesity in rats. **Acta Cir Bras**. 2006, v. 21, n. 6, p. 425-429.
- DINIZ Y.S. et al. Toxicity of hypercaloric diet and monosodium glutamate: oxidative stress and metabolic shifting in hepatic tissue. **Food Chem Toxicol.** 2004; 42(2):319
- DIXON, D.P. et al. Functional divergence in the glutathione transferase superfamily in plants: identification of two classes with putative functions in redox homeostasis in *Arabidopsis thaliana.* **J Biol Chem**. 2002, 277: 30859–30869.
- DOMMELS, Y.E.M. et al. Dietary n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids and colorectal carcinogenesis: results from culture colon cells, animal models and human studies. **Environ Toxicol Pharmacol**. 2002; 12(4): 233-44.

- DOURMASHKIM J.T. et al. Different forms of obesity as a function of diet composition. **Int J Obes**. 2005; 29: 1368-78.
- DRELA, N. et al.Moderate exercise may attenuate some aspects of immunosenescence
- **BMC Geriatrics**. 2004, 4**:**8
- DUARTE FO. Adaptações metabólicas a dois tipos de treinamento moderado de natação, contínuo e intermitente, em ratos machos adultos alimentados com dieta normocalórica e hipercalórica [dissertação]. São Carlos: **Universidade Federal de São Carlos**; 2001.
- DUARTE F.O. et al. O exercício de final de semana contribui para o controle das dislipidemias em ratos adultos machos alimentados com dieta rica em gorduras. **Rev Bras Fisioter**. 2003; 7(3): 229-35
- DUARTE, A.C.G.O. et al. Dieta hiperlipídica e capacidade secretória de insulina em ratos. **Rev Nutr**. 2006 v. 19, n. 3, p. 341-348.
- DUBOIE M, GILLES HA, HAMILTON JK, ROBERTS PA, SMITH F. Colorimetric methods for determinations of sugars and related substances. **Anal Chem**. 1956; 28:350-8.
- DUCY, P. et al. Leptin inhibits bone formation through a hypothalamic relay: a central control of bone mass. **Cell.** 2000; 100(2):197-207.
- DUSSERRE E, MOULIN P, VIDAL H. Differences in mRNA expression of the proteins secreted by the adipocytes in human subcutaneous and visceral adipose tissues. **Biochim Biophys Acta**. 2000; 1500(1):88-96
- EGGER, J. ET AL. Effect of diet treatment on enuresis in children with migraine or hyperkinetic behavior**, Clinical Pediatrics (Phila***)*, 1992; 31(5):302-7
- EGUCHI, R. et al. Efeitos do Exercício Crônico Sobre a Concentração Circulante da Leptina e Grelina em Ratos com Obesidade Induzida por Dieta. **Rev Bras Med Esporte**, 2008, v. 14, n. 3, p. 73.
- ENGLISH, P.J. et al. Food falls to suppress ghrelin levels in obese humans. **J. Clin. Endocrinol. Metab.** 2002, 87(6): 2984.
- EPSTEIN, L.H. et al. Decreasing sedentary behaviors in treating pediatric obesity. **Arch Pediatr Adolesc Med**. 2000; 154:220–226.

- ESTADELLA D, OYAMA LM, DÂMASO AR, RIBEIRO EB, OLLER DO NASCIMENTO CM. Effect of palatable hyperlipidic diet on lipid metabolism of sedentary and exercised rats**. Basic. Nutrition. Invest**.2004; 20(2):218-224.
- ESTADELLA, D. Dieta palatável hiperlipídica modifica o metabolism cerebral e o tecido adipose em ratos, dependendo da idade e do tempo de tratamento. São Paulo; s.n; 2005. (112)p. Apresentada a Universidade Federal de São Paulo. **Escola Paulista de Medicina.** Curso de Nutrição para obtenção do grau de Doutor.
- EWING, R.; CERVERO, R. Travel and the Built Environment: A Synthesis. **Transportation Research Record ,** 2001,1780.
- FACIOLI, N.L., BARRERA, A.D. Optimization of enzymatic sterification of soybean oil deodorizer distillate. **J Sci Food Agric**. 2001; 81(12):1193–1198.
- FAIN, J.N. et al. Comparison of the release of adipokines by adipose tissue, adipose tissue matrix, and adipocytes from visceral and subcutaneous abdominal adipose tissues of obese humans. **Endocrinology,** 2004, v. 145, p. 2273-2282.
- FANTUZZI, G. Adipose tissue, adipokines and inflammation. **J Allergy Clin Immunol**. 2005, 115(5):911-919.
- FARIA, E.A. Estudo da estabilidade térmica de óleos e gorduras vegetais por TG/DTG e DTA. **Eclet. Quím**. 2002; 27 :111-19.
- FAROOQI, I. S. et al. Ob gene mutations and human obesity. **Proc. Nutr. Soc**. 1998; 57:471–475.
- FAROOQI, I.S.et al. Effects of recombinant leptin therapy in a child with congenital leptin deficiency. **N Engl J Med**. 1999; 341:879–884.
- FAROOQI, I.S. et al. Partial leptin deficiency and human adiposity. **Nature**. 2001, 414:34–35.
- FAROOQI, I.S.et al. Clinical spectrum of obesity and mutations in the melanocortin 4 receptor gene. **N Engl J Med**. 2003; 348:1085–1095.
- FARRELL, W.S.; KAMPERT, J.B.;KOHL III, H.W.; BARLOW, C.E. et al. Influences of cardiorespiratory fitness levels and other predictors on cardiovascular disease mortality in men. **Med. Sci Sports. Exerc**, 1998, 30(6): 899-905.
- FASOL, R. et al. The influence of obesity on perioperative morbidity: retrospective study of 502 aortocoronary bypass peration. **Thorac. Cardiovasc. Surg**., 1992, v. 40, p. 126-129.

- FERRANTE Jr, A.W. Obesity-induced inflammation: a metabolic dialogue in the language of inflammation. **Journal of Internal Medicine.** 2007**,** 262:408-414.
- FERREIRA, F.C. Adaptações somáticas a programa deexercício moderado em natação, em ratos machos jovens alimentados com dieta hipercalórica[monografia]. São Carlos: **Universidade Federal de São Carlos**; 2002.
- FERRY, A. et al. Effect of physical exhaustion and glucocorticoides (dexamethasone) on T-cells of trained rats. **Eur. J. Appl. Physiol. Occup. Physiol**. 1993, 66 (5): 455-60.
- FILHO, F. F.R. et al. http://www.ingentaconnect.com/content/ben/cdr/ 2006/ 00000002 /00000001/art00004 - aff 1 The New Adipose Tissue and Adipocytokines. **Current Diabetes Reviews.** 2006, V. 2, N. 1, p. 19-28(10)
- FISHBECK, K.L., RASMUSSEN, K.M. Effect of repeated cycles on maternal nutritional status, lactational performance and litter growth in ad libitum-fed and chronically food-restricted rats. **Jour of Nutr.** 1987, v.117, n.11, p.1967-1975.
- FISBERG, M. Primeiras palavras: uma introdução ao problema do excesso de peso. In: Atualização em obesidade na infância e na adolescência**.** São Paulo: **Atheneu**. 2004, cap. I, p. 1-9.
- FITZGERALD, L. Overtraining increases the susceptibility to infection. **Int J Sports Med**, 1991, 12(Suppl 1): 55-58.
- FOLCH, J; LEES, M; STANLEY. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **- J S. biol. Chem**, 1957
- FOREYT, J. e GOODRICK, K. The ultimate triumph of obesity. **Lancet**. 1995; 346:134–135.
- FRANCO, O.H. et al. Associations of Diabetes Mellitus With Total Life Expectancy and Life Expectancy With and Without Cardiovascular Disease**. Arch Intern Med**. 2007; 167(11):1145-1151.
- FRANCO, L.D.P.; CAMPOS, J.A.D.B.; DEMONTE, A. Teo.r lipídico da dieta, lipídios séricos e peso corporalem ratos exercitados. **Rev. De Nut. ,** 2009, v. 22, p. 359-366.
- FUJIMOTO, W.Y. et al. Visceral adiposityand incident coronary heart disease in Japanese-American men. **Diabetes Care**. 1999, 22(11):1808-12.

- FUJIMOTO W.Y. The importance of insulin resistance in the pathogenesis of Type 2 Diabetes Mellitus. **Am J Med**. 2000; 108(6A):9S-14S
- FUNAHASHI T, MATSUZAWA Y, KIHARA S. Adiponectin as a potential key player in metabolic syndrome Insights into atherosclerosis, diabetes and cancer. **Int Congress Series**. 2004; 1262:368-71.
- FRIED SK, BUNKIN DA, GREENBERG AS. Omental and subcutaneous adipose tissues of obese subjects release interleukin-6: depot difference and regulation by glucocorticoid. **J Clin Endocrinol Metab**. 1998; 83(3):847-50.
- FRUHBECK G, GOMEZ-AMBROSI J, MURUZABAL FJ, BURRELL MA. The adipocyte: a model for integration of endocrine and metabolic signaling in energy metabolism regulation. **Am J Physiol Endocrinol Metab**. 2001; 280(6):E827-47.
- GAILLARD RC. Neuroendocrine-Immune system interations. The Immune-hypotalamo-pituitary-adrenal axis. **Trends in Endoc Metabol (TEM)** 1994, 7(5): 303-309.
- GAÍVA, M.H.G.; COUTO, R.C.; OYAMA, L.M. Polyunsaturated fatty acid-rich diets: effect on adipose tissue metabolism in rats**. Br J Nutr.** 2001, v. 86, p. 371.
- GARRUTI, G. et al. Neuroendocrine deregulation of food intake, adipose tissue and the gastrointestinal system in obesity and metabolic syndrome. **J Gastrointestin Liver Dis.** 2008**,** 17(2):193-19.
- GAUTHIER, M.S. ; COUTURIER, K. ; LATOUR, J.G. ; LAVOIE, J.M. Concurrent exercise prevents high-fat-diet-induced macrovesicular hepatic steatosis. **J Appl Physiol**. 2003; 94(6):2127-34.
- GHIBAUDI, L. et al. Fat Intake Affects Adiposity, Comorbidity Factors, and nergy Metabolism of Sprague-Dawley Rats. **Obesity Research.** 2002, v.10, p. 956–963.
- .GIBSON, R.A. Docosa-hexaenoic acid (DHA) accumulation is regulated by the polyunsaturated fat content of the diet: Is it synthesis or is it incorporation? Asia. **Pac J Clin Nutr.** 2004; 13(Suppl):S78.
- GOLDSTEIN, B.J.; SCALIA, R. Adiponectin: a novel adipokine linking adipocytes and vascular function. **J Clin Endocrinol Metab**. 2004; 89(6):2563-8.
- GOMEZ-AMBROSI, J.; FRUHBECK, G. Do resistin and resistin-like molecules also link obesity to inflammatory diseases? **Ann Intern Med**. 2001; 135(4): 306-7.

- GONÇALVES, E.L.; WAITZBERG, D.L.; BEVILACQUA, R.G.; BEVILACQUA, L.R. Composição corpórea em diferentes condições nutricionais: estudo experimental. **Ver. Paul. Med**., 1990; 108(3): 125-33.
- GORTMAKER, S.L. et al. Social and economic consequences of overweight in adolescence and young adulthood. **N Engl J Med**. 1993; 329:1008–1012.
- GORTMAKER, S.L. et al. Television viewing as a cause of increasing obesity among children in the United States, 1986–1990. **Arch Pediatr Adolesc Med**. 1996; 150: 356–362.
- GOTTSCHLICH, M.M.; MAAYES, T.; KHOURY, J.C.; WARDEN, G.D. Significance of obesity on nutritional, immunologic, hormonal and clinical outcome parameters in burns. **J. AM. Diet. Assoc.,** 1993, v. 93, p. 1261-1268.
- GUIMARÃES, D.E.D. et al. Adipocitocinas: uma nova visão do tecido adiposo. **Rev. Nutr**., Campinas, 2007, 20 (5): 549-559.
- GUTIÉRREZ, P.J.L. et al. Cuándo, cómo y porqué del tratamiento antibiótico en las enfermedades periodontales y perimplantarias. **Av.Periodon. Implantol.** 2003, v. 15, p. 87-98.
- GUYTON AC & HALL JE. Tratado de fisiologia médica. 9 ed. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**, 1997. 1014 p.
- GUS I; FISCHMANN A.; MEDINA C. Prevalência dos Fatores de Risco da Doença Arterial Coronariana no Estado do R. G. do Sul (Instituto de Cardiologia do Rio Grande do Sul). **Arq. Bras. de Cardiologia,** 2002, 78 (5):478-83
- GUTIERREZ-PEREZ, JL. Infecciones orofaciales de origem odontogênico. **Méd. Oral**. 2004, v. 9, n. 1, p.280-287.
- GUTIN, B. et al. Plasma leptin concentration in obese children: changes during 4‑mo periods with and without physical training. **Am J Clin Nutr.**1999; 69: 388-94.
- HADDY, N. et al. IL-6, TNF-alpha and atherosclerosis risk indicators in a healthy family population: the stanislas cohort. **Atherosclerosis**. 2003; 170(2):277-83
- HALAAS JL, GAJIWALA KS, MAFFEI M, COHEN SL, CHAIT BT, RABINOWITZ D, et al. Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. **Science.** 1995; 269(5223):543-6.
- HALES, C.N. e BARKER, D.J. The thrifty phenotype hypothesis. **Br Med Bull.** 2001; 60:5-20

- HALPERN, ZSC.; RODRIGUES, MDB.; DA COSTA, RF. Determinantes fisiológicos do controle do peso e do apetite. **Rev. Psiq. Clin,** 2004,31(4) :150-153.
- HARDMAN AE. Physical activity, obesity and blood lipids. **Int J Obes**. 1999; 23(3):S64-S7.
- HARKNESS, J.E. Biologia clínica de coelhos e roedores. São Paulo: **Roca.** 1993, p.9-55.
- HAUNER H. The new concept of adipose tissue function. **Physiol Behav.** 2004; 83(4):653-8
- HAVEL PJ. Update on adipocyte hormones: regulation of energy balance and carbohydrate/lipid metabolism. **Diabetes**. 2004; 53(Suppl 1): S143-51.
- HAVERKATE, F. et al. Inflammation and Cardiovascular Disease. **Lancet**. 1997, p. 349-462.
- HAYES, S.C. et al. Immunological changes after cancer treatment and participation in an exercise program. **Med. Sci. Sports Exerc**. 2003, 35(1):1-9.
- HEATH, G.W; FORD, E.S.; CRAVEN, T.E., et al. Exercise and the incidence of upper respiratory tract infections. **Med Sci Sports Exerc**. 1991, 23: 152-157.
- HICKEY, W.F. et al. T-lymphocyte entry into the central nervous system. **J Neurosci Res.** 1997; 28: 254–60.
- HICKEY, E.K. et al. Genome Sequence of the Radioresistant Bacterium *Deinococcus radiodurans* R1**. Science**. 1999, Vol. 286, no. 5444, p. 1571-1577.
- HIDA, K. et al**.** Visceral adipose tissue-derived serine protease inhibitor: a unique insulin-sensitizing adipocytokine in obesity. **Proc Natl Acad Sci**. USA. 2005, 102(30):10610-5.
- HILL, JO; FRIED, SK; DIGIROLAMO, M. Effects of a high fat diet on energy intake and expenditure in rats. **Life Sci.** 1983, 33: l4l-. 149**.**
- HILL, J.O. e PETERS, J.C. Environmental contributions to the obesity epidemic. **Science**. 1998; 280:1371–1374.
- HILL, J. et al. Lipid accumulation and bofat distribution is influenced by type of dietary fat fed to rats. **Int J Obes. Relat. Metab. Disord**. 1993; 17(4):223–36.
- HINNEY, A. et al. Ghrelin gene: identification of missense variants and a frameshift mutation in extremely obese children and adolescents and health normal weight students. **J. Clin. Endocrinol. Metab**. 2002, 87(6): 2716.

- HONSTRA**,** G. et al. Essential fatty acid composition. **Am. J. Clin. Ntr**. Bethesda, 2001, v.73, p. 807 – 814.
- HOTAMISLIGIL, G.S.; SHARGILL, N.S.; SPIELGEMAN, B.M. Adipose expression of tumor necrosis factor-alfa: direct role in obesity-linked insulin resistance. **Science.** 1993, 259:87-91.
- HOUMARD, J.A. et al. Lipid oxidation is reduced in obese human skeletal muscle. **American Journal of Physiology**. 2000, vol. 279 no. 5 E1039-E1044
- HU, F.B. E WILLETT, W.C. Optimal diets for prevention of coronary heart disease. **JAMA**, 2002, 288(20): 2569-78.
- HUBERT, H.B. et al. Obesity as an independent risk factor for cardiovascular disease: a 26- year follow-up of participants in the Framingham Heart Study. **Circulation.** 1983, 67: 968-77.
- IBGE. Pesquisa de Orçamentos Familiares (Análise da disponibilidade domiciliar de alimentos e do estado nutricional no Brasil). 2005, Disponível em: http://www.ibge.gov.br.
- IOSSA S. et al. Effect of high-fat-feeding on metabolic efficiency and mitochondrial oxidative capacity in adults. **Br J Nutr**. 2003; 90(5):953-60.
- JACOBY, E.R. PAHO regional consultation of the Americas on diet, physical activity andhealth. **Food Nutr Bull** 2004; 25; 2: 172-4
- JANEWAY, C.A. Jr. How the immune system protects the host from infection. **Microbes Infect**.2001, 3:1167-71.
- JAKICIC, J. e OTTO, A.D. Physical activity considerations for the treatment an prevention of obesity. **Am J Clin Nutr**. 2005; 82(suppl):226S–9S.
- JAWETZ, E. Microbiologia medica**.** 18. Ed. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan,** 1991.519 p.
- JEQUIER, E . Leptin signaling, adiposity and energy balance. **Ann N Y Acad Sci**, 2002, 967:379-88.
- JEQUIER, E. Pathways to obesity. **Int J Obes Relat Metab Disord**, 2006, v. 26, n. 12, p. 322.
- JORGE, A.O.C., Microbiologia Bucal, 2ª **Ed. São Paulo**: Santos, 1998. 122 p.

- JUNIEN, C.; NATHANIELSZ, P. Report on the IASO Stock Conference 2006: early and lifelong environmental epigenomic programming of metabolic syndrome, obesity and type II diabetes. **Obesity Reviews**. 2007, v. 8, p. 487-502.
- KATAN, M.B. Fatty acids and health: an update. **Scand J Nutr**. 1999. v. 43, p. 26.
- KEAST, D.; CAMERON, K.; MORTON, A.R. Exercise and the immune response. **Sports Med**., 1988, v. 5: 248-267.
- KERSHAW, E.E.; FLIER, E.S. Adipose tissue as an endocrine organ. **J. Clin. Endocrinol. Metab**. , 2004, v. 89, n. 6, p. 2548-2556.
- KHAN, L.K.; BOWMAN, B.A. Obesity: a major global public health problem. **Annu Rev Nutr**. 1999, v. 19, p. 13-17.
- KIM, H et al. Modulation of immune responses by treadmill exercises in Sprague-Dawley rats. **J Sports Med Phys Fitness**, 2003, 43: 99-104.
- KING, A.C. et al. Personal and environmental factors associatedwith physical inactivity among different racial-ethnic groups of U.S. middle-aged andolder-aged wo. **Sports Med**., 2000, v. 8: 148-157.
- KISSEBAH, A.H. Central obesity: meansurement and metabolic effects. **Diabetes Reviws.** 1997, v. 5, n. 1, p. 8-20.
- KOLLER, M.M. Desipramine changes salivary gland function, oral microbiota, and oral health in rats. **Europ Jour of Pharmacol**, 2000, v. 408, n. 1, p. 91-98.
- KRAEMER, R.R. et al. Effects of aerobic exercise on serum leptin levels in obese women. **European Journal of Applied Physiology.** 2005, V. 80.
- KRUDE, H. et al. Severe early-onset obesity, adrenal insufficiency and red hair pigmentation caused by POMC mutations in humans. **Nat Genet**. 1998; 19:155–157.
- LAWRENCE, C.M.; DENNIS, L.K. Introdução às doenças infecciosas: interações hospedeiro-patógeno. In: KASPER, D.L. et al. **Medicina interna.** 16. ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill Interamericana do Brasil, 2006. p. 423-455
- LAZAR, M.A. How now, brown fat? **Science.** 2008**,** 321:1048-1050.
- LEANDRO, C. Influência do treino de resistência moderado na resposta imunológica de ratos submetidos à contenção aguda. **Tese de Doutorado, Porto, Portugal,** 2005.
- LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.L. Princípios de Bioquímica. 3.ed.São Paulo: **Sarvier,** 2002. P. 975.

- LEPAGE, GA; ROY, S. An improved adaptation of the direct transesterification method of Lepage and Roy .**J. Lipid Res**. 1984, v.25, 1391–96.
- LIN, S. et al. Development of high fat diet induced obesity and leptin resistance in C57Bl/6J mice. **Int J Obes Relat Metab Disord.** 2000**,** v. 24, p. 639.
- LINDHE, J. Tratado Perodontologia Clínica. 2. ed. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan.** 1992, p.88-106.
- LINDHE, J. Tratado de peridontia clínica e implantologia oral. 4° Ed. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan,** 2005; p.1048.
- LISSNER, L. et al. Birth weight, adulthood BMI and subsequent weight gain in relation to leptin levels in Swedish women. **Obesity Res**. 1999, 7:150-154.
- LORD, G.M., et al. Leptin modulates the T-cell immune response and reverses starvation-induced immunosuppression. **Nature.** 1998; 394(6696): 897-901.
- LOVOIE JM, YASARI S, ABDENNADHER M, PAQUETTE A. Effects of alternations (10 days) of high-fat diet with normal diet on liver lipid infiltration, fat gain, and plasma metabolic profile in rat. **Physiol Behav.** 2005; 86(4):442-8.
- LYON, C.J. et al. Minireview: Adiposity, Inflammation, and Atherogenesis**.** **Endocrinology.** 2003**,** V. 144, No. 6, p. 2195-2200
- MACHADO, P.R.L. ; ARAÚJO, M.I.A.S. ; CARVALHO, L. ; CARVALHO, E.M. Mecanismos de resposta imune às infecções. **An Bras Dermatol**,, 2004, 79(6) :647-664.
- MAGE, D. et al. Urban air pollution in megacities of the world. World Health Organization, **Division**, 1992
- MANDELL, G.L.; et al. Principles and practice of infectious diseases. 5. ed. **Philadelphia**: Churchill Livingstone, 2005, p. 2242.
- MANZONI MS, ROSSI EA, CARLOS IZ, VENDRAMINI RC, DUARTE AC, DÂMASO AR. Fermented soy product supplemented with isoflavones affected fat depots in juvenile rats. **Nutrition**. 2005.
- MARCOTTE, H.; LAVOIE, M.C. Oral microbial ecology and the role of salivary immunoglobulin A. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, 1998, v. 62, n. 1, p. 71-109.
- MARGETTS B. WHO global strategy on diet, physical activity and health. **Public Health Nutr**. 2004; 7:361–363.men.

- MARTÍ, A.; MARCOS, A.; MARTINEZ, J.A. Obesity and immune function relationships. **Obes. Reviws**, 2001, v. 2, p. 131-140.
- MÁRTON, I.J.; KISS, C. Protective and destructive immune reactions in apical periodontitis. **Oral microbiology and immunology**. 2000, v. 15, p. 139-150.
- MASLOWSKA, M.; SCANTLEBURY, T.; GERMINARIO, R.; CIANFLONE, K. Acute in vitro production of acylation stimulating protein in differentiated human adipocytes. **J Lipid Res.** 1997; 38(1):1-11.
- MCHEYZER-WILLIAMS, M.G. Immune response decision at the single cell level. **Immumology. ,** 1997, v. 9, p. 219-227.
- MENDALL, M.A,. C-reactive protein: relation to total mortality, cardiovascular mortality and cardiovascular risk factors in men. **Eur Heart J**. 2000, 21(19):1584-90.
- MENDONÇA A.C. et al. Development of the insulin secretion mechanism in fetal and neonatal rat pancreatic B-cells: response to glucose, K^+, theophylline, and carbamylcholine. **Braz J Med Biol Res.** 1999, Ribeirão Preto, v.. 31 n..6
- MILLER, W.C. et al. Adaptations to a high fat diet that increase endurance in male rats. **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, 2004, v.56, p.78-83.
- MOKDAD, A.H. et al. The continuing epidemic of obesity inthe United States. **JAMA**. 2000; 284: 1650–1651.
- MONTAGUE, C T. et al. Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans**. Nature.** 1997; 387(6636): 903-8
- MORETTO E & FETT, R. Tecnologia de óleos e gorduras vegetais na indústria de alimentos. São Paulo: **Varela**, 1998.
- MORIN, C.L.; ECKEL, R.H.; MARCEL, T.; PAGLIASSOTTI, M.J. High fat diets elevate adipose tissue-derived tumor necrosis factor-alpha activity**. Endocrinology.** 1997; 138(11):4665-71.
- MOULTON, M.J. et al. Obesity is not a risk factor for significant adverse outcomes after cardiac surgery. **Circulation.** 1994, v. 94, p. 87-92.
- MUÑOZ, M.; MAZURE< R.A.; CULEBRAS, J.M. Obesidady sistema immune. **Nutr. Hosp**., 2004; v. 19; p. 87-92.
- MURDOCH, C.; MUTHANA, M.; LEWIS, C.E. Hypoxia regulates macrophage functions inflammation. **J Immunol**. 2005, 175:6257-63.
- MURRAY, R.K. et al. *Harper*: Bioquímica.São Paulo: **Atheneu**, 2002. 919p.

- MUZUMDAR, R. et al. Physiologic effect of leptin on insulin secretion is mediated mainly through central mechanisms. **FASEB J.** 2003; 17(9):1130-2.
- NASCIMENTO, E. et al. Pode a glutamina modular a imunidade? **Anais Faculd de Méd CCS – UFPE**, 2001, 46 (2) :67-70.
- NASCIMENTO, E. Efeitos da L-Glutamina ou do treinamento físico moderado sobre parâmetros imunológicos em ratos submetidos ou não a estresse agudo. **Univ. Federal de Pernambuco.** Recife, 2004.
- NASCIMENTO, C.M. et al. Long-chain polyunsaturated fatty acids essential for brain growth and development. do. **Nutrition**. 2003 ; 19(1):66.
- NCEP 2001. Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatmentof high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). **Journal of American Medical.** 2001.
- NEHLSEN-CANARELLA, S.L. Cellular responses to moderate and heavy exercise. **Can J.Physiol Pharmacol**, 1998, 76 (5): 485-489.
- NIEMAN, D.C.; JOHANSSEN, L.M.; LEE, J.W.; ARABATZIS, K. Infections episodes in runners before and after the Los Angels Marathon. **J Sports Med Phys Fitness**, 30: 316-328, 1990a sociation. 2001; 285:2486-96.
- NIEMAN, D.C.; NEHLSEN, C.S.L.; MARKOFF, P.A.; LAMBERTON, A.J., et al. The effects of moderate exercise training on natural killer cells and acute upper respiratory tract infections**. Int J Sports Med**, 1990b, 11: 467-473.
- NIEMAN, D.C. et al. Influence of obesity on immune function. **Int**.**J. Obes.** 1996, v. 20, p. 353-360.
- NIEMAN, D.C. et al. Immune responses to obesity and moderate weight loss. **J. Am. Diet. Assoc**, 1999, v. 99, p. 294-299.
- NIEMAN, DC. Is infection risk linked to exercise workload? **Med Sci Sports Exerc,** 2000**,** 32(7): S406-411.
- NONOGAKI, K. et al. Interleukin-6 stimulates hepatic triglyceride secretion in rats. **Endocrinology.** 1995; 136(5):2143-9.
- OKASAKI, K., et al. Serum antibodies to *Mycobacterium paratuberculosis* in patients with Crohn's disease. **Digest. Dis. Sci**.1999, v. *44*, p.1202-1207.

- OTTAVIANI, E.; FRANCESCHI, C. The neuroimmunology of stress from invertebrates to man. **Prog Neurobiol.** 1996; 48: 421-40.
- OTERO, M. et al. Leptin, from fat to inflammation: old questions and new insights. **FEBS Lett**. 2005, v. 579, n. 2, p. 295-301.
- OUCHI N, et al. Novel modulator for endothelial adhesion molecules: adipocyte-derived plasma protein adiponectin. **Circulation.** 1999; 100(25): 2473-6.
- OZATA, M. et al. Human leptin deficiency caused by a missense mutation: multiple endocrine defects, decreased sympathetic tone, and immune system dysfunction indicate new targets for leptin action, greater central than peripheral resistance to the effects of leptin, and spontaneous correction of leptin-mediated defects. **J Clin Endocrinol Metab.** 1999, v**.** 84 : p. 3686 –3695.
- PASTER, B.J. Bacterial diversity in human subgingival plaque. **J. Bacteriol**, 2001, v. 183, n. 1, p. 3770-3783.
- PAULI, J.R.; ROPELLE, E.R.; CINTRA, D.E.; SOUZA, C.T. Efeitos do exercício físico na expressão e atividade da AMPKα em ratos obesos induzidos por dieta rica em gordura. **Ver. Bras.Med. Esporte**, 2009, v. 15, n. 2, p. 98-103.
- PEAKMAN, M; VERGANI, D. Imunologia básica e clínica. Ed. **Guanabara Koogan**. Rio de Janeiro, 1999.
- PEDERSEN BK; HOFFMAN-GOETZ, L. Exercise and the immune system regulation, integration and adaptation. **Psic Rev**, 2000, 80 (3): 1055-1081.
- PERMANA, P.A. ; MENGE, C. ; REAVEN, P.D. Macrophage-secreted factors induce adipocyte inflammation and insulin reistance. **Biochem Biophys Res Commun**. 2006, 10 :507-14.
- PHILIP, T.J.et al. The Worldwide Obesity Epidemic. **Obesity Revisit**. 2002, 9: 228-233.
- PHILLIPS, D.I. et al. Intramuscular triglyceride and muscle insulin sensitivity: evidence for a relationship in nondiabetic subjects. **Metabolism**. 1996; 45(8):947-50.
- PITHON-CURI, T.C. et al. Glucose and glutamine utilization by rat lymphocytes, monocytes and neutrophils in culture: a comparative study. **Cell Biochem Funct**. 2004, 22 :321-326.
- PI-SUNYER, F.X. et al. Obesity-A modern-day epidemic. **J Clin Endocrin.** 1999, v. 84, p. 3-5.

- PINKNEY, J.; WILLIAMS, G. Ghrelin gets hungry. **Lancet**. 2002, 359 (9315): 1360-1.
- POOBALAN A. et al. Effects of weight loss in overweight/obese individuals and long-term lipid outcomes: a systematic review. **Obs Rev**. 2004; 5(1):43-50.
- POPKIN, B.M. Dietary fat intake does affect obesity. **Am J Clin Nutr** .1998; 68:1157-1173
- PORTO, S.M.M.S et al. Desnutriçao neonatal e microbiota normal da cavidade oral em ratos. **Rev. Nutr**. 2007, v. 20, n. 6, p. 625-632.
- PORTO, S.M.M.S. Impacto da desnutrição neonatal e do treinamento físico moderado em mecansimos de defesa de ratos adultos. **Universidade Federal de Pernambuco,** 2006, Recife.
- PRADA PO, ZECHIN HG, GASPARETTI AL, TORSONI MA, UENO M, HIRATA AE, et al. Western diet modulates insulin signaling, activity and IRS-1ser307 phosphorylation in a tissue-specific fashion. **Endocrinology.** 2005; 146(3):1576-87.
- PRINCE, J.B. Adipose tissue as na endocrine organ. **Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.** 2002, 16(4):639-651.
- PROENÇA, C.R. Desafios Contemporâneos com Relação a Alimentação Humana. **Nutrição em Pauta**. 2002; 10 (52):32-36.
- PROULX, K. et al. Leptin Regulates Appetite-Related Neuropeptides in the Hypothalamus of Developing Rats without Affecting Food Intake . **Endocrinology.** 2002, V**.**143, N. 12, p. 4683-4692
- PYNE, D.B.; GLEESON, M. Effects of intensive training on immunity in athletes. **Int J Sports Med**, 1998, 19: 138-194.
- RAMALHO, R.; GUIMARÃES, C> Papel do tecido adiposo e dos macrófagos no estado de inflamação crônica associada à obesidade: implicações clínicas. **Acta Med Port,** 2008, 21 (5):489-496.
- RIDKER, P.M.; BURING, J.E.; RIFAI, N.; COOK, N.R. Development and validation of improved algorithms for the assessment of global cardiovascular risk in women: the Reynolds Risk Score. **JAMA,** 2007, 297(6):611-9.
- RODRIGUES, A.M.; NEWMAN, M.G. Microbiologia e imunologia periodontal. In: CARDOSO, R.J.A.; Gonçalves, E.A.N. **Periodontia/Cirurgia/Cirurgia para implantes**. São Paulo: Artes Médicas 2002, p. 21-50.

- RODRIGUEZ, A. et al. [1,] Requirement of bic/microRNA-155 for Normal Immune Function**. Science.** 2007, V. 316 n. 5824 p. 608-611.
- RUBY BC, ROBERGS RA. Gender differences in substrate utilisation during exercise. **Sports Med** 1994; 17: 393‑410.
- RUDIN E, BARZILAI N. Inflammatory peptides derived from adipose tissue. **Immun Ageing**. 2005; 2(1): 1
- SALEM, N. Introduction to polyunsaturated fatty acids. **Backgrounder.** 1999; 3(1):
- SALGADO, J.M. Faça do alimento o seu medicamento. 3. ed. São Paulo: **Madras**, 2000.
- SÁNCHEZ-MARAGALET, V. et al. Role of leptin as an immunomodulator of blood mononuclear cells: mechanisms of action. **Clin. Exp. Immunol**., 2003, v. 133, n. 1, p. 11-19.
- SANTOS, R.S.; VIANNA, L.M. Dieta hipercalórica agrava a hipertensão arterial em ratos espontaneamente hipertensos. **Nutrire Ver. Soc. Bras. Aliment. Nutr**., 2007; 32(1): 1-9.
- SARTIPY, P.; LOSKUTOFF, D.J. Monocyte chemoattractant protein 1 in obesity and insulin resistance. Prod Nati Acad Sci, 2003, 100:7265.
- SAVAGE, D.B., et al. Resistin/Fizz expression in relation to obesity and peroxisome proliferator-activated receptor-gamma action in humans. **Diabetes.** 2001; 50(10):2199-202.
- SCHADT, E.E. et al. Genetics of gene expression surveyed in maize, mouse and man. **Nature**. 2003; 422:297–302..
- SICHIERI, R. Factors associated with dietary patterns in the urban Brazilian population. **Cad Saude Publica** 2003; 19 Suppl S47-53
- SCHOOLS HEALTH EDUCATION UNIT (**SHEU**). Renslade House, Bonhay Road, EXETER Devon EX4 3AY, 2000.
- SCHRAUWEN, P.; WESTERTERP, K.R. The role of high-fat diets and physical activity in the regulation of body weight. **Br J Nutr**. 2000, v. 84, n. 4, p. 417-427.
- SCHWARTZ, M.W., et al. Specificity of leptin action on elevated blood glucose levels and hypothalamic neuropeptide Y gene expression in ob/ob mice. **Diabetes**. 1996; 45(4):531-5.

- SCHWARTZ, M.A. et al. Cell Migration: Integrating Signals from Front to Back. **Science.** 2003: V. 302, n. 5651,p. 1704-1709.
- SEIDELL, J.C**.** Visceral fat in relation to health: is it a major culprit or simply an innocent bystander? **Intern. Journal of Obesity**. 1997, v. 21, p. 626-631
- SEUFERT, J., et al. Leptin suppression of insulin secretion and gene expression in human pancreatic islets: implications for the development of adipogenic diabetes mellitus. **J Clin Endocrinol Metab.** 1999; 84(2):670-6.
- SHARMA N. et al. Potential impact of carbohydrate and fat intake on pathological left ventricular hypertrophy. **Cardiovasc Res.** 2007; 73 (2): 257-68.
- SHINTANI, M. et al. Ghrelin, an endogenous grouth hormone secretagogue, is a novel orexigenic peptide that antagonizes leptin action through the activation of hypothalamic neuropeptídeo Y/Y1 receptor pathway. **Diabetes**. 2000, v. 50, p. 227-32.
- SIERRA-HONIGMANN, M.R., et al.. Biological action of leptin as an angiogenic factor. **Science.** 1998; 281(5383):1683-6.
- SNYDER, E.E. et al. The human obesity gene map: the 2003 update. **Obes Res**. 2004; 12:369–439.
- SOBAL, J. Obesity and socioeconomic status – a framework for examining relationship between physical and social variables. **Medical Anthropology.** 1991, 13 nº3: 231-247.
- SOCRANSKY, S.S.; HAFFAJEE, A.D. Periodontal microbial ecology**.** **Periodontology**. 2000, v. 38, n. 1, p. 135-187.
- SPRANGER, J., et al. Adiponectin and protection against type 2 diabetes mellitus. **Lancet.** 2003; 361(9353):226-8.
- STALLONE, D.D. The influence of obesity and is treatment on the immune system. **Nutr. Rev.,** 1994, v. 52, p. 37-50
- STEIN F.L.P. et al.Vascular responses to extractable fractions of Ilex paraguariensis in rats fed standard and high-cholesterol diets. **Biological Research For Nursing** 2005; 7 (2): 146-56.
- STEPPAN, C.M., et al. The hormone resistin links obesity to diabetes. **Nature.** 2001; 409(6818): 307-12.

- STROBEL, A. et al. A leptin missense mutation associated with hypogonadism and morbid obesity. **Nat Genet**. 1998; 18:213–215.
- SWARTZ, M.N.; GIBBONS, R.; SOCRANSKY, S. Bacterias endógenas. Microbiología oral. In: DAVIS, B. D. et al. **Tratado de Microbiologia**. 4. ed. Barcelona: Masson 1996. p. 697-705.
- SWEETTMAN, P.M. Total and differential leukocyte counts as predictors of ischemic heart disease: the Caerphilly and Speedwell studies**. Am J Epidemiol**. 1997; 145: 416–421.
- TANAKA, M. et al. Increased fasting plasma ghrelin levels in patients with bulimia nervosa. **Eur. J. Endocrinol**. 2002, 146(6): r1-3.
- TARGHER, G. et al. Homeostasis model assessment closely mirrors the glucose clamp technique in the assessment of insulin sensitivity: studies in subjects with various degrees of glucose tolerance and insulin sensitivity. **Diabetes Care.** 2000, v. 23, p. 57-63.
- THOMPSON, C.B. Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. **Science**. 1995, V. 267, n. 5203,p. 1456-1462 .
- TORTORA, G.J.; FUNKE, B.R.; CASE, C.L. **Microbiologia**. 6. ed. Porto Alegre: **Artes Médicas Sul**, 2000, p. 394-420.
- TOTTI, M.A.G. Recuperação de *Candida Albicans*, *C. Tropicalis*, *C. Guilliermondii* e *C. Krusei* na cavidade bucal de ratos normais e sialoadenectomizados. **Rev Odonto**. 1996, v. 25, n. 1, p. 119-124.
- TRABULSI, L.R.; DE TOLEDO, M.R.F.; SILVA, N.P. **Microbiologia.** 1 ed. São Paulo: **Atheneu,** 1986. p. 17-19.
- TRAYHURN, P.; WOOD, I.S. Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. **Br. J. Nutr**, 2004, v.92, n.3, p. 347-355..
- TRAYHURN, P.; WOOD, I.S. Signalling role of adipose tissue: adipokines and inflammation in obesity. **Biochem Soc Trans,** 2005, 33(Pt5):1078-1081.
- TRAYHURN, P. et al. Hypoxia increases expression of selective facilitative glucose transporters (GLUT) and 2-deoxy-D-glucose uptake in human adipocytes. **Biochemical and Biophysical Research Communications.** 2007, 361, p. 468–473.
- TSCHOP, M.; MORRISON, K.M. Weight loss at high altitude. **Adv Exp Med Biol** 2001; 502: 237-47

- UTHAISANGSOOK, A. et al. Innate immunity and its role against infections. **Ann Allergy Asthma Immunol,** 2002. 88:253-265.
- VAISSE, C. et al. A frameshift mutation in human MC4R is associated with a dominant form of obesity. **Nat Genet**. 1998; 20:113–114.
- VAL FAUSTO, C.S.C. et al. Timo: caracterização ultra-sonográfica. Radiologia Brasileira. 2004, v. 37. P. 207-210.
- VALASSI, E. et al. Neuroendocrine control of food intake. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**. 2008, v. 18, I. 2, p. 158-168.
- VAN SNICK, J. Interleukin-6: an overview. **Ann. Rev. Immunol**., 1996; 8:253-78.
- VENDRELL,J. et al. Resistin, Adiponectin, Ghrelin, Leptin, and Proinflammatory Cytokines: Relationships in Obesity. **Obes Res**. 2004; 12:962–971.
- WAJCHENBERG, B.I. Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome. **Endocr. Rev**., 2000, v.21, 697-738.
- WEBER, D.J. et al.Impaired immunogeniticy of hepatitis B vaccine in obese person. **N. Engl. J. Med.** 1986, v. 314, p. 1393.
- WILLET, W. Is dietary fat a major determinant of body fat? **Am J Clin Nutr.** 1998, v. 67, p.556-562.
- WOMACK, J. Obesity and immune cell counts in women. **Metab. Clin. And Expe.,** 2007, v. 56, p998-1004.
- WOODS, J.A. et al. Exe3rcise and cellular innate immune function. **Med. Sci. Sports Exerc**. 1999, 31(1): 57-76.
- WOODS S.C. et al. A controlled high-fat diet induces an obese syndrome in rats. **J Nutr**. 2003; 133(4):1081-7
- WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Geneva: **WHO;** 1997.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Obesity: preventing and managing the global epidemic. **WHO: Geneva**, 1998.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. Obesity: Controlling the global epidemic. Geneva:**WHO;** 2001

- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Report of the joint WHO/FAO expert consultation. **WHO Technical Report Series.** 2003**,** No. 916
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Overweight and obesity - a new nutrition emergency? **Introduction, SCN News.** 2005**,** n. 29, p. 3-4.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Obesity and Overweight.2006, n. 311.
- XU, H.Y. et al. Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance, **J. Clin. Invest.** 2003, v. 112 .p. 1821–1830.
- YAO, E.S.; LAMONT, R.J.; LEU, S.P. Interbacterial binding among strains of pathogenic and commensal oral bacterial species. **Oral Microbiology and Immunology**, 1996, v. 6, n. l, p. 11-35.
- YAMAUCHI, T. et al. Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. **Nat. Med.** 2002; 8 (11): 1288-95.
- YASWEN, L. et al. Obesity in the mouse model of proopiomelanocortina deficiency responds to peripheral melanocortin. **Nat Med**. 1999; 5:1066–1070.
- YEO, G.S. et al. A frameshift mutation in MC4R associated with dominantly inherited human obesity. **Nat Genet**. 1998; 20:111–112.
- YEO, G.S.et al. The role of melanocortin signalling in the control of body weight: evidence from human and murine genetic models. **QJM**. 2000; 93:7–14.
- YOUNG, L.R.;NESTLE, M. The contribution of expanding portion sizes to the US obesity epidemic. **Am J Public Health**. 2002, 92(2) 246-9.
- YURA, S. et al. Neonatal exposure to leptin reduces glucose tolerance in adult mice. **Acta Physiologica. 2005.**
- ZARAGOZA-HERMANS, N.M. Studies on the metabolic effects induced in the rat bya high-fat diet control of glucose metabolism in adipose tissue of fed and fasted rats. **Eur J Biochem.** 1974, v. 48, p. 579-582.
- ZAVARONI, I. et al. Risk factors for coronary artery disease in health pearson with hiperinsulinemia and normal glucose tolerance. **N. Engel. J. Med.** 1989, v. 320, p. 702-706.

- ZHANG, Y. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. **Nature.** 1994; 372: 425-32.

ANEXOS

ANEXO A - Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa

ANEXO B - Documentação de submissão dos artigos aos periódicos

ANEXO C - Certificado de premiação por 1º lugar de trabalho em congresso

ANEXO D - Certificado de premiação por 2º lugar de trabalho em congresso

ANEXO E - Certificado de apresentação de trabalho em congresso

ANEXO F - Certificado de apresentação de trabalho em congresso

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 8350
www.ccb.ufpe.br

Recife, 31 de março de 2009

Ofício nº 124/09

Da Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEA) da UFPE
Para: **Profª.: Célia Maria Machado Barbosa de Castro**
Departamento de Nutrição
Processo nº 23076.000651/2009 - 68

Os membros da Comissão de Ética em Experimentação Animal do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEEA-UFPE) avaliaram seu projeto de pesquisa intitulado ***"Efeito do treinamento físico moderado em parâmetros imunológicos de ratos adultos obesos."***

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 CEEA-UFPE.

Encontra-se de acordo com as normas vigentes no Brasil, especialmente a Lei 9.605 – art. 32 e Decreto 3.179-art 17, de 21/09/1999, que trata da questão do uso de animais para fins científicos.

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

Atenciosamente,

Profa. Maria Teresa Jansem
Presidente do CEEA
UFPE

Observação: Projeto para a doutoranda: Solange Maria Magalhães da Silva Potro.
Origem dos animais: Biotério do Departamento de Nutrição;
Animal: Ratos Wistar; Sexo: Machos; Idade: Entre 90 e 130 dias; Número de animais previsto no protocolo: 40 animais.

ARTIGO 1 : Enviado para publicação no Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science.

"Efeito da obesidade sobre a microbiota da cavidade oral de ratos."

Em 14 de outubro de 2010 14:36, <bjvras@usp.br> escreveu:
>
> Boa Tarde,
>
> Prezada Autora,
>

> Segue em anexo a carta de recebimento do artigo e pe=E7o a gentileza que =
me
> mande uma declara=E7=E3o asssinada,que os autores e co-autores, concordam=
com a
> taxa de pagamento de R$40,00 por p=E1gina publicada, caso o artigo seja

> aprovado. Favor confirmar o recebimento deste e-mail.

> E pe=E7o a gentileza que confirme o nome do autor 5, pois no cd est=E1 co=
mo
> Rafael Acioly5, e no impresso est=E1 Rafael Acioi Medeiros, para evitar
> maiores transtorno na avalia=E7=E3o do artigo, assim que fizer a corre=E7=
=E3o, me

> envie por e-mail.
>
>
> Atenciosamente

> Cristiane Santos Torralba Orb=EAa
> Secret=E1ria da Se=E7=E3o de Publica=E7=E3o do Peri=F3dico

ARTIGO 2 : Enviado para publicação no Brazilian Journal of Nutrition (Revista de Nutrição)

"Efeitos da dieta hiperlipídica em parâmetros antropométricos de ratos adultos treinados."

Em 09 de fevereiro de 2011 16:25, < ccv.revistas@puc.campinas.edu.br> escreveu:

Boa Tarde,

Estimada Autora,

Comunicamos o recebimento e agradecemos o envio do seu manuscrito "Efeitos da dieta hiperlipídica em parâmetros antropométricos de ratos adultos treinados".
O manuscrito deve ajustar-se ao seguinte estilo editorial:

1. Os resultados devem ser separados da Discussão.
   (Resultados e Discussão não são aceitos)
2. Informar nome do(s) autor(es) e co-autor(es), devidamente assinado por cada integrante, identificando a responsabilidade efetiva de cada um na elaboração do manuscrito.

Favor enviar o manuscrito corrigido de acordo com o que foi indicado.

Atenciosamente,

Elizabeth Lima
Secretária de publicação de periódicos

Revista de Nutrição
(*Brazilian Journal of Nutrition*)
Núcleo de Editoração SBI/CCV
Campinas, SP
Fone/Fax: +55-19-3343-6875
E-*mail*: ccv.revistas@puc.campinas.edu.br

ARTIGO 3: Enviado para publicação no Oral Microbiology and Immunology Manuscript Central.

"Avaliação do recrutamento e funções de células do sistema imune em ratos adultos obesos submetidos à natação."

Manuscript submitted – OMI – 2011 – 0002

D De:
jslots@usc.edu
Enviada:quarta-feira, 14 de julho de 2010 8:20:33
Para: solangemporto@hotmail.com
Dear Miss PORTO:
Your manuscript has been successfully submitted to the Immunology Manuscript Central. As corresponding author, you will receive future communications via e-mail. Your manuscript number is: OMI-2010-0002. Please make note of your manuscript number for future reference. Please remember to quote the electronically generated manuscript number issued to you during this submission process.
You can keep track of your manuscript by logging on periodically to Manuscript Central where the status will be displayed in your Author Center, and also the name and email address of the Editor in charge of your review.
Thank you for your interest in the Immunology
Sincerely yours,
Jorgen Slots
Immunology

---

e: jslots@usc.edu

CRACNE

Congresso Regional de
Análises Clínicas do Nordeste
20 de novembro de 2009
Hotel Recife/PE

CERTIFICADO

CERTIFICAMOS

que o trabalho intitulado

DOSAGENS BIOQUÍMICAS EM RATOS OBESOS SUBMETIDOS À ENDOTOXEMIA

dos autores Thays Miranda, Karla MF Silva, Solange MMS Porto, Rosangela R Silva, Bruno Sampaio e Célia MMB de Castro

recebeu o **PRÊMIO GILSON CIDRIM** como **MELHOR TRABALHO** oferecido pelo 7º Congresso Regional de Análises Clínicas do Nordeste (CRACNE).

Dr. Jurandi David da Silva
Presidente do Congresso

Realização: SBAC Sociedade Brasileira de Análises Clínicas — SBAC-PE

Organização: Qualidade Eventos

Patrocínio: HERMES PARDINI

CRACNE

Congresso Regional de
Análises Clínicas do Nordeste

17 a 20 de novembro de 2009

Mar Hotel Recife/PE

CERTIFICADO

CERTIFICAMOS

que o trabalho intitulado

EFEITO DA OBESIDADE SOBRE PARÂMETROS DA SÉRIE VERMELHA DO SANGUE

dos autores Rafael Acioli, Karla MF Silva, Solange MMS Porto, Rosangela R Silva, Etiene AA dos Santos e Célia MMB de Castro

recebeu o **PRÊMIO GILSON CIDRIM** de **SEGUNDO COLOCADO** oferecido pelo 7º Congresso Regional de Análises Clínicas do Nordeste (CRACNE).

Dr. Jurandi David da Silva
Presidente do Congresso

Realização: SBAC Sociedade Brasileira de Análises Clínicas — SBAC-PE

Organização:

Patrocínio: HERMES PARDINI

RACNE

resso Regional de
Clínicas do Nordeste

de novembro de 2009

otel Recife/PE

CERTIFICADO
DE APRESENTAÇÃO DE TEMA LIVRE

DOSAGENS BIOQUÍMICAS EM RATOS OBESOS SUBMETIDOS À ENDOTOXEMIA

Autores: Thays Miranda, Karla M. F. Silva, Solange M. M. S. Porto,
Rosangela R. Silva, Bruno Sampaio, Célia M. M. B. de Castro

Dr. Jurandi David da Silva
Presidente do Congresso

Realização: Sociedade Brasileira de Análises Clínicas SBAC SBAC-PE

Organização: Qualidade Eventos

Patrocínio: HERMES PARDINI

7º CRACNE

Congresso Regional de Análises Clínicas do Nordeste

17 a 20 de novembro de 2009

Mar Hotel Recife/PE

CERTIFICADO

DE APRESENTAÇÃO DE TEMA LIVRE

EFEITO DA OBESIDADE SOBRE PARÂMETROS DA SÉRIE VERMELHA DO SANGUE

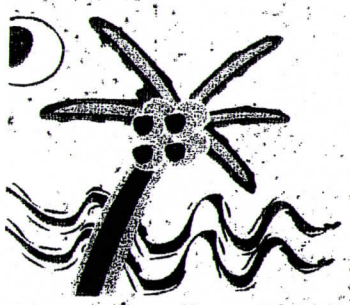
Autores: Rafael Acioli, Karla M. F. Silva, Solange M. M. S. Porto, Rosangela R. Silva, Etiene A. A. dos Santos e Célia M. M. B. de Castro

Dr. Jurandi David da Silva
Presidente do Congresso

Realização: Sociedade Brasileira de Análises Clínicas SBAC — SBAC-PE

Organização:

Patrocínio: HERMES PARDINI



ONGRESSO BRASILEIRO DE
ECTOLOGIA

Certificado

Maceió, 18 a 21 de outubro de 2009

Certificamos que o trabalho "REPERCUSSÃO DA DIETA HIPERLIPÍDICA SOBRE A TAXA DE FAGOCITOSE DE MACRÓFAGOS ALVEOLARES EM RATOS ADULTOS ENDOTOXÊMICOS" com o(s) autor(es) AMPAIO, B.; SILVA, K. M. F.; SILVA, R. R.; PORTO, S. M. M. S.; CASTRO, C. M. M. B. inscrito no tema: Infecção Bacteriana foi apresentado na forma de pôster, no XVI Congresso Brasileiro de Infectologia, realizado no período de 18 à 21 de outubro de 2009.

Maria Raquel dos A. S. Guimarães
Presidente do Congresso

COMISSÃO NACIONAL DE ACREDITAÇÃO CNA AMB·CFM

Jurandir José Duailibe Furtado
Presidente da Sociedade Brasileira de Infectologia