

IRACEMA HERMES PIRES DE MÉLO MONTENEGRO

**INFLUÊNCIA DO TREINAMENTO FÍSICO MODERADO E DA
ATIVIDADE FÍSICA VOLUNTÁRIA NA PLASTICIDADE
FENOTÍPICA DE RATOS**

RECIFE, 2012

IRACEMA HERMES PIRES DE MÉLO MONTENEGRO

**INFLUÊNCIA DO TREINAMENTO FÍSICO MODERADO E DA
ATIVIDADE FÍSICA VOLUNTÁRIA NA PLASTICIDADE
FENOTÍPICA DE RATOS**

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: Prof^a Dr^a Carol Góis Leandro, professora adjunta do Núcleo de Educação Física e Ciências do Esporte do Centro Acadêmico de Vitória de Santo Antão.

RECIFE, 2012

Montenegro, Iracema Hermes Pires de Mélo
Influência do treinamento físico moderado e da
atividade física voluntária na plasticidade fenotípica
de ratos / Iracema Hermes Pires de Mélo
Montenegro. – Recife: O Autor, 2012.
93 folhas: il., fig.; 30 cm.

Orientador: Carol Góis Leandro

Tese (doutorado) – Universidade Federal de
Pernambuco. CCS. Nutrição, 2012.

Inclui bibliografia e anexos.

1. Exercícios físicos. 2. Avaliação nutricional.
3. Desenvolvimento fetal- ratos. 4. Crescimento-
ratos. I. Leandro, Carol Góis. II. Título.

613.71

CDD (20.ed.) CCS2012-016

UFPE

IRACEMA HERMES PIRES DE MÉLO MONTENEGRO

**INFLUÊNCIA DO TREINAMENTO FÍSICO MODERADO E DA
ATIVIDADE FÍSICA VOLUNTÁRIA NA PLASTICIDADE FENOTÍPICA
DE RATOS**

Aprovado em: 01 de fevereiro de 2011.

BANCA EXAMINADORA

Cláudia Jacques Lagranha, Doutora, Universidade Federal de Pernambuco – Centro Acadêmico de Vitória.

Sandra Lopes de Souza, Doutora, Universidade Federal de Pernambuco.

Carol Góis Leandro, Doutora, Universidade Federal de Pernambuco – Centro Acadêmico de Vitória.

Ary Gomes Filho, Doutor, Universidade Federal de Pernambuco.

Marco Antônio Fidalgo Amorim, Doutor, Universidade Federal de Pernambuco – Centro Acadêmico de Vitória.

RECIFE
2012

À minha filha amada, Valentina

Ao meu esposo, Jayme

À minha mãe, Magnólia

À minha orientadora, Carol Leandro

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todas as mãos que juntas esculpimos esta tese. A gratidão que tenho pela dedicação de cada pessoa é imensa. E esse é só o começo de uma longa jornada! Como disse Aristóteles: “Em tudo o que fazemos, temos em vista alguma outra coisa”.

A minha orientadora, Prof^a Carol Leandro, pela minha formação, por sua generosidade e paciência na transferência de conhecimento e dedicação à nossa pesquisa. Ela me ensinou que: “Os únicos limites das nossas realizações de amanhã são as nossas dúvidas e hesitações de hoje”
- *Franklin Delano Roosevelt*.

Ao grupo “Origem Desenvolvimentista da Saúde e da Doença” - NNI, que com o guia Prof^o Raul Manhães-Castro, que me proporcionou crescimento científico e pessoal.

À Flávia Reis, antes estagiária, hoje pesquisadora e amiga. Juntas todos os dias da coleta de dados aprendemos bastante sobre a pesquisa e sobre a vida.

Ao Adriano Bento, que me auxiliou imensamente na coleta de dados e no raciocínio acerca da atividade física.

Ao Sr Marius que antes trabalhava apenas com o comércio de acrílico e aceitou a idéia de auxiliar na pesquisa construir a gaiola de atividade física voluntária baseado em nossas informações.

Ao Sr Adelmo que inseriu seu trabalho com câmeras de segurança patrimonial em nossos estudos adequando-a a filmagem dos animais na gaiola.

Ao Marco Fidalgo, Matilde, Wylla, Amanda, Fellipe, América, Tícia, Antônio e demais amigos do grupo NNI com quem sempre contei.

À Neci, Lúcia Pires e Cecília por toda a atenção, carinho e auxílio burocrático.

Ao Dr^o Ediones França que me ensinou todo o cuidado e carinho necessário ao animal. Sempre disposto a ajudar, com ele aprendi o manuseio aos animais.

Ao Sr. Paulino (*in memoriam*) pela dedicação no preparo das rações e auxílio no biotério.

À coordenação da Pós-graduação em Nutrição do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco, coordenada por Prof^a Mônica Osório, pela condução em minha formação acadêmica.

Aos Professores Egberto Gaspar de Moura, Patrícia Lisboa e sua equipe do Laboratório de Fisiologia Endócrina do Instituto de Biologia Roberto Alcântara Borges da Universidade do Estado do Rio de Janeiro pelo acolhimento, aprendizado e orientação no estágio científico.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (Cnpq) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pela concessão das bolsas de estudo.

À Universidade de Pernambuco – Campus Petrolina que me apoiou no término do doutorado.

Agradeço, principalmente, a quem me guia: Deus. Além de me dar vida e vontade de aproveitá-la ao máximo, ele colocou todas essas pessoas em meu caminho.

“É muito melhor lançar-se à luta em busca do triunfo mesmo expondo-se ao insucesso, que formar fila com os pobres de espírito, que nem gozam muito nem sofrem muito; E vivem nessa penumbra cinzenta sem saber o que é perder ou o que é ganhar”.

Franklin Delano Roosevelt

RESUMO

Objetivo: Avaliar os efeitos do treinamento físico moderado sobre a leptinemia em ratos adultos submetidos à desnutrição protéica perinatal e da atividade física voluntária em ratos em desenvolvimento. **Métodos:** Esta pesquisa foi dividida em duas etapas: (1) avaliação dos efeitos do treinamento físico moderado sobre ratos adultos submetidos à desnutrição perinatal, (2) avaliação do nível de atividade física em ratos. *1ª Etapa.* 24 ratos filhotes machos da linhagem Wistar (8 ratas Wistar, genitoras) através de suas genitoras, foram submetidos a uma dieta normoprotéica (17% caseína, $n = 12$) ou uma dieta de baixa proteína (8% de caseína, $n = 12$) durante o período perinatal. No 60º dia de idade, os animais foram subdivididos em 4 grupos: dieta normoprotéica (controle, C, $n = 6$), dieta de baixa proteína (desnutrido, D, $n = 6$), dieta normoprotéica e treinado (treinado, T, $n = 6$) e dieta de baixa proteína e treinados (desnutrido e treinado DT, $n = 6$). Os ratos foram treinados através de corrida em uma esteira durante 8 semanas (5 dias / semana, 60 min / dia a 70% do $VO_{2\text{ máx}}$). O peso corporal e taxa de crescimento foram registrados diariamente durante todo o experimento. Após o período de treinamento, aos 118 dias de idade o tecido adiposo visceral e subcutâneo foi retirado para avaliação de leptina (analisados por Western Blot). *2ª Etapa.* Ratos Wistar (23 dias de idade) foram divididos em dois grupos: controle (C, $n = 05$ gaiolas, 20 animais) e ativo (A, $n = 05$, 20 animais). Os animais foram mantidos em ciclo claro-escuro invertido e avaliados semanalmente. O grupo ativo, dos 23 aos 90 dias de idade, realizou atividade física voluntária utilizando o cicloergômetro. O grupo controle permanecia em gaiola padrão de biotério. Medidas de peso, comprimento e consumo alimentar e hídrico foram registrados durante todo o experimento. Aos 90 dias de idade, as medidas da circunferência torácica e abdominal foram realizadas e em seguida os animais foram sacrificados. O sangue foi removido para a análise bioquímica de glicose, colesterol, triglicerídeos e proteína total. **Resultados:** *1ª Etapa.* Aos 118 dias de idade, os animais submetidos a dieta de baixa proteína no período perinatal e treinamento físico apresentaram aumento da leptina no tecido adiposo visceral ($p < 0.05$). *2ª Etapa.* Quanto à atividade física voluntária, os animais realizaram atividade durante o período escuro apresentando dois períodos com um maior número de animais no cicloergômetro. O primeiro momento entre as 06:00 e 09:00h e o segundo, menor que o anterior, entre as 15:00 e 16:00h. Os animais ativos mostraram maior peso corporal que o controle a partir dos 63 dias de idade ($p < 0.05$). O percentual de ganho de peso foi maior no grupo ativo a partir dos 70 dias de idade ($p < 0.05$). A partir dos 42 dias de idade, o consumo alimentar foi maior no grupo ativo a partir dos 42 dias de vida ($p < 0.05$). A bioquímica sérica avaliada indicou menor glicemia nos ratos ativos ($p < 0.05$). **Conclusão:** O treinamento físico moderado atenua a resposta adaptativa da leptina no tecido adiposo visceral à desnutrição perinatal. Adaptações fenotípicas à atividade física (peso corporal, circunferência torácica e abdominal e glicemia) podem ser evidenciadas.

PALAVRAS-CHAVE: Período crítico de desenvolvimento, plasticidade fenotípica, atividade física e treinamento físico moderado.

ABSTRACT

Objective: Investigate the effects of moderate physical training on leptin levels in adult rats submitted to perinatal protein malnutrition and voluntary physical activity in developing rats. **Methods:** This research was divided into two steps: (1) assess the effects of moderate physical training on adult rats submitted to perinatal malnutrition, (2) assess the level of physical activity in rats. *Step 1.* 24 young male rats of Wistar particular lineage (8 Wistar mothers rats,) through their mothers, were subjected to a protein diets (17% casein, n = 12) or a low-protein diet (8% casein, n = 12) during the perinatal period. On the 60th day of age, the animals were divided into 4 groups: protein diets (control, C, n = 6), low-protein diet (malnourished, D, n = 6), protein diets and trained (trained, T, n = 6) and low-protein diet and trained (malnourished and trained DT, n = 6). The rats were trained by running on a treadmill for 8 weeks (5 days / week, 60 min / day at 70% VO₂max). Body weight and growth rate were recorded daily throughout the experiment. After the training period, blood was taken for leptin analysis of serum and adipose tissue (analyzed by radioimmunoassay) and leptin receptor in adipose tissue (analyzed by Western blot). *Stage 2.* Wistar rats (23 days old) were divided into two groups: control (C, n = 05 cages, 20 animals) and active (A, n = 05, 20 animals). The animals were kept under reversed light-dark cycle and evaluated weekly. The active group, from the 23rd to the 90th day of age, physical activity voluntarily performed using the cycle ergometer. The control group remained in standard vivarium cage. Measurements of weight, length, and food and water consumption were recorded throughout the experiment. At 90 days of age, the extent of the thoracic and abdominal circumference were taken and then the animals were sacrificed. Blood was removed for biochemical analysis of glucose, cholesterol, triglycerides and total protein. **Results:** *Step 1.* At 118 days of age, the animals subjected to low-protein diet in the perinatal period and physical training showed increases in leptin visceral adipose tissue (p <0.05). *Stage 2.* As for voluntary physical activity, the animals underwent activity during the dark period featuring two periods with a greater number of animals in the cycle ergometer. The first time between 06:00 and 09:00 h and the second, lesser than the previous one, between 15:00 and 16:00 h. The active animals showed higher body weight than the control from 63 days of age (p <0.05). The percentage of weight gain was higher in the active group at 70 days of age (p <0.05). From 42 days of age, food consumption was higher in the active group from 42 days of life (p <0.05). The serum biochemistry showed lower blood glucose measured in active rats (p <0.05). **Conclusion:** The moderate physical training attenuates the adaptive response of leptin in visceral adipose tissue perinatal malnutrition. Phenotypic adaptations to physical activity (body weight, chest and abdominal circumference and glucose) can be evidenced.

Keywords: Critical period of development, programming, physical activity and moderate physical training.

SUMÁRIO

1	APRESENTAÇÃO	10
	1.1 Objetivos	16
	1.2 Hipóteses	17
2	ARTIGO DE REVISÃO DA LITERATURA: Influência da atividade física na modulação da insulina e leptina programada no período perinatal	18
3	MÉTODOS	27
	1ª ETAPA	28
	2ª ETAPA	35
4	RESULTADOS – ARTIGOS ORIGINAIS	41
	ARTIGO ORIGINAL 1 - Effects of a moderate physical training on the leptin synthesis by adipose tissue of adult rats submitted to a perinatal low-protein diet	42
	ARTIGO ORIGINAL 2 - Adaptações fenotípicas evidenciadas em ratos Wistar sob atividade física voluntária	56
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	73
	REFERÊNCIAS	76
	ANEXO A: Ofício de aprovação no CEEA da UFPE – Artigo original 1	87
	ANEXO B: Ofício de aprovação no CEEA da UFPE – Artigo original 2	88
	ANEXO C: Comprovante de aprovação do Artigo de Revisão Bibliográfica	89
	ANEXO D: Comprovante de submissão do Artigo Original 1	90
	ANEXO E: Comprovante de submissão do Artigo Original 2	91

APRESENTAÇÃO

1 APRESENTAÇÃO

O desenvolvimento do organismo ocorre em grande intensidade da gestação a primeira infância devido ao crescimento rápido, maturação de órgãos e sistemas, replicação e diferenciação celular (MORGANE; MILLER *et al.*, 1978; MORGANE; AUSTIN-LAFRANCE *et al.*, 1993). Alterações nesse período, chamado “Período crítico do desenvolvimento”, podem ser irreversíveis (DOBBING, 1968).

A oferta adequada de nutrientes é imprescindível para a manutenção do crescimento e desenvolvimento dos sistemas fisiológicos (HERCBERG; CHAT-YUNG *et al.*, 2008; LIU; MAO *et al.*, 2009). O aporte inadequado de nutrientes pode alterar o padrão dos eventos morfogenéticos que ocorrem nesta fase, com consequências deletérias para o desenvolvimento e a aquisição dos padrões fisiológicos maduros do organismo (RESNICK; MILLER *et al.*, 1979; NOBACK, EISENMAN, 1981).

Estudos epidemiológicos têm relatado que a desnutrição no período fetal e na infância predispõe o indivíduo adulto a doenças cardiovasculares e diabetes tipo II, ou aos fatores de risco associados como a hipertensão, intolerância à glicose e hiperlipidemia (FORSDAHL, WAALER, 1976; BARKER, OSMOND, 1986; BARKER; OSMOND *et al.*, 1989; HALES; BARKER *et al.*, 1991). Com base nestas observações, foi sugerida a hipótese da influência fenotípica (*Thrifty phenotype hypothesis*), na qual o organismo se adapta a um *milieu intrauterino* adverso otimizando a utilização de nutrientes para assegurar sua sobrevivência (HALES, BARKER, 1992). Se as condições iniciais da vida se alteram, essa adaptação pode se tornar deletéria ocasionando doenças relacionadas ao metabolismo (HALES, BARKER, 1992; LUCAS; BAKER *et al.*, 1996; MORLEY, LUCAS, 2000; MORTAZ; FEWTRELL *et al.*, 2001). Esse fenômeno biológico é chamado de “programação”, onde estímulos ou insultos no início da vida levam a alterações na idade adulta (LUCAS, 1991).

A programação induzida pela desnutrição tem sido estudada em humanos e em modelos animais (LUCAS; BAKER *et al.*, 1996; MORTAZ; FEWTRELL *et al.*, 2001; FAGUNDES; MOURA *et al.*, 2007). Ravelli, Stein e Susser (1976) estudaram homens cujas mães passaram fome durante a gestação entre os anos de 1944-1945, a chamada *Dutch famine* (Fome holandesa). Os autores observaram que a exposição à fome no período da gestação resultou em jovens obesos

aos 19 anos (RAVELLI; STEIN *et al.*, 1976). Em Hertfordshire (Inglaterra), dentre 5654 homens, aqueles que apresentaram um menor peso ao nascer tiveram maior taxa de mortalidade por doenças cardiovasculares quando adultos (BARKER; OSMOND *et al.*, 1989). Estudos experimentais demonstram que ratos desnutridos na lactação possuem menor peso corporal, maior quantidade de gordura corporal, hiperglicemia e hiperinsulinemia aos 180 dias de vida (FAGUNDES; MOURA *et al.*, 2007). Animais sob restrição protéica ou energética na lactação apresentaram resistência aos efeitos anorexígenos da leptina aos 150 dias de vida (PASSOS; RAMOS *et al.*, 2000; VICENTE; DE MOURA *et al.*, 2004). Animais desnutridos na gestação e lactação (proteína 6%) apresentaram redução do peso corporal, hiperglicemia, diminuição da insulina sérica, baixa concentração de triacilglicerol aos 180 dias de vida (MINANA-SOLIS MDEL, ESCOBAR, 2008). Assim, tanto estudos experimentais como em humanos demonstram que a desnutrição perinatal está associada ao aparecimento de doenças crônico-degenerativas não genéticas com as dislipidemias, a obesidade, a hipertensão e a diabetes tipo 2.

As doenças crônico-degenerativas têm sido associadas à alta taxa de mortalidade em países desenvolvidos e países em desenvolvimento (BATISTA FILHO, RISSIN, 2003; DIETZ; BENKEN *et al.*, 2009). Nos Estados Unidos, pode-se evidenciar uma epidemia de obesidade (DIETZ; BENKEN *et al.*, 2009). Na Índia, foi observado um aumento da prevalência de doenças cardiovasculares em centros urbanos (GUPTA, 2008). No Brasil e na China, estudos epidemiológicos apontam diminuição da desnutrição infantil e aumento do sobrepeso/obesidade em adultos (POPKIN, 2001; BATISTA FILHO, RISSIN, 2003). Atualmente a prevalência de sobrepeso entre a população adulta brasileira é relativamente alta nas cinco regiões, tanto nas áreas urbanas, quanto nas zonas rurais e em todos os estratos socioeconômicos (SCHRAMM; OLIVEIRA *et al.*, 2004). O estilo de vida está bem relacionado a essa prevalência (DOMINGUEZ; GALIOTO *et al.*, 2008). Dietas hiperlipídicas e o sedentarismo, baixo nível de atividade física regular, são fortemente associados ao aparecimento precoce de doenças crônico-degenerativas (POPKIN, 2001). Estratégias de intervenção que incluam mudanças no estilo de vida, como uma dieta equilibrada e a prática de atividade física têm sido propostas (IVANOVIC; CASTRO *et al.*, 1996; WHO, 2003; SCHRAMM; OLIVEIRA *et al.*, 2004; GUPTA, 2008).

O termo atividade física refere a qualquer movimento do músculo esquelético que demande um gasto energético acima do metabolismo basal (CASPERSEN; POWELL *et al.*, 1985). Um indivíduo pode ser classificado como ativo quando o nível de atividade física

representa um gasto igual ou superior a 1.500 kcal por semana acima do metabolismo basal. As atividades físicas incluem: caminhar, correr, tarefas domésticas, ocupações profissionais, e outras (CASPERSEN; POWELL *et al.*, 1985). O nível de atividade física diário em humanos pode ser avaliado indiretamente através de questionários e cálculo da taxa de dispêndio metabólico (FORSUM; LOF *et al.*, 2006; CALVISI; DE VINCENTIIS *et al.*, 2008). Ou avaliado por métodos objetivos com a utilização de pedômetros e acelerômetros os quais quantificam o dispêndio energético associado às atividades cotidianas (BYE; TJONNA *et al.*, 2009; FJELDSOE; MARSHALL *et al.*, 2009). A atividade física regular está relacionada a diminuição do risco de desenvolver obesidade e doenças correlatas (LEANDRO; MARTINS DE LIMA *et al.*, 2006; COPPEN; RISSE *et al.*, 2008).

O exercício físico e o treinamento físico referem à atividade física realizada sistematicamente seguindo a magnitude do esforço (intensidade, duração, frequência e tipo) (SILVEIRA, DENADAI, 2002; LEANDRO; MARTINS DE LIMA *et al.*, 2006). Quanto à intensidade, o exercício físico pode ser classificado como leve, moderado e intenso. Essa classificação toma como base a realização de testes de esforço máximo para avaliar o aumento da concentração de lactato no sangue, o consumo máximo de oxigênio (VO_{2max}), ou a frequência cardíaca máxima (FC_{max}). Em exercícios de intensidade leve e moderada, a concentração de lactato no sangue permanece estável (variando entre 2 até 4 mmol/L), ou seja, o lactato é produzido em menores concentrações ou metabolizado em maiores quantidades (SILVEIRA, DENADAI, 2002). O VO_{2max} e a FC_{max} são os parâmetros fisiológicos mais comumente utilizado em estudos para referenciar a intensidade do esforço. Assim, um exercício leve geralmente refere de 20 a 50% do VO_{2max} e da FC_{max} , um exercício moderado de 50-70% do VO_{2max} e da FC_{max} e o exercício intenso acima de 80% do VO_{2max} e da FC_{max} (LEANDRO; LEVADA *et al.*, 2007).

Quando o exercício físico é realizado de forma sistemática e com a intensidade do esforço controlada, passa-se a referir como treinamento físico. Assim como o exercício físico, o treinamento físico pode ser classificado como leve, moderado e intenso (LEANDRO; MARTINS DE LIMA *et al.*, 2006). O treinamento físico a 65-80% do VO_{2max} ou 70-85% da FC_{max} está associado ao aumento do metabolismo oxidativo e melhoria da capacidade física (BRUM; FORJAZ *et al.*, 2004).

Evidências dos benefícios da atividade física e do treinamento físico para a saúde podem ser observadas em estudos com humanos e animais (FEDIUC; CAMPBELL *et al.*, 2006;

BENER; ZIRIE *et al.*, 2009). Em humanos, indivíduos adultos ativos apresentaram uma redução nas dobras de adiposidade subcutâneas abdominal e redução de 12 a 14% no risco de desenvolver doenças cardiovasculares (BENER; ZIRIE *et al.*, 2009; MARUTHUR; WANG *et al.*, 2009; SINGH; CHIN *et al.*, 2009). Adolescentes que realizam atividade física possuem 33% menos de chance de desenvolver a síndrome metabólica (EKELUND; ANDERSSSEN *et al.*, 2009). É bem estabelecido que a atividade física atenua a hipertensão arterial, a hiperglicemia de jejum e as dislipidemias, reduzindo os triglicerídeos séricos e aumentando o colesterol HDL (DANCY; LOHSOONTHORN *et al.*, 2008; TJONNA; LEE *et al.*, 2008; ZOLADZ; PILC *et al.*, 2008; BYE; TJONNA *et al.*, 2009). Também foi observado um aumento na expressão de receptores para insulina no tecido adiposo e no músculo estriado esquelético (TJONNA; LEE *et al.*, 2008; ZOLADZ; PILC *et al.*, 2008; BYE; TJONNA *et al.*, 2009). O treinamento físico (exercício aeróbico três vezes na semana por 16 semanas) reduz o peso corporal, a gordura corporal, a glicemia e a sinalização de insulina no músculo esquelético e tecido adiposo (TJONNA; LEE *et al.*, 2008). Em animais, a atividade física voluntária em ratos machos (corrida em cicloergômetro por 5 semanas) diminuiu o percentual de gordura na região epididimal (FEDIUC; CAMPBELL *et al.*, 2006). O treinamento físico em ratos (natação por 5 semanas, 5 dias/semana) diminui o LDL e VLDL e aumenta o HDL, diminuindo o risco de doenças coronarianas (GHAEMMAGHAMI; SASSOLAS *et al.*, 1986). Ratos submetidos a dieta hiperlipídica, o treinamento físico de endurance preveniu o desenvolvimento da resistência à leptina (STEINBERG; SMITH *et al.*, 2004). O treinamento (corrida por sete semanas e sete dias na semana) diminuiu o mRNA para leptina no tecido adiposo assim como a leptina sérica (ZACHWIEJA; HENDRY *et al.*, 1997).

A inatividade física associada ao consumo aumentado de dietas hiperlipídicas e hipercalóricas têm elevado a incidência de doenças cardiovasculares e diabetes tipo 2 (WHO, 2003). Um estudo envolvendo o cenário da “*Dutch famine*” indica que recém-nascidos com baixo peso ao nascer tendem a possuir um estilo de vida inativo e uma maior ingestão de alimentos hipercalóricos contribuindo para o aparecimento da síndrome metabólica na fase adulta (LUSSANA; PAINTER *et al.*, 2008). Por outro lado, a atividade física regular parece minimizar os efeitos da programação induzida pela desnutrição perinatal (DE-MELLO, 1994; TORUN, VITERI, 1994; OAKES; COONEY *et al.*, 1997). Crianças desnutridas estimuladas a realizar atividade física regular apresentaram maior altura e peso corporal quando comparadas às inativas (TORUN, VITERI, 1994). Os estudos que envolvem atividade física voluntária em animais ainda

são controversos, quanto à padronização de protocolos, e uma padronização de uma técnica aplicável para quantificar essa atividade ainda não tem sido estabelecida.

Assim, considerando os prejuízos causados pela desnutrição perinatal na vida adulta e os benefícios da atividade física à saúde, pretende-se compreender os efeitos moduladores do treinamento físico moderado, em ratos adultos submetidos à desnutrição protéica perinatal sobre a leptinemia e os parâmetros somáticos e avaliar a atividade física voluntária em ratos. Visto que, estudos que determinem maneiras de minimizar os agravos da desnutrição perinatal, como através do exercício físico, são relevantes. Assim como, foi desenvolvida uma gaiola de atividade física voluntária de forma que os animais puderam realizar atividade física voluntária durante todo o período de crescimento e os benefícios dessa atividade possam ser avaliadas.

A pesquisa foi desenvolvida no laboratório de Fisiologia da Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco tendo como orientadora Prof^a Dr^a Carol Góis Leandro. Parte do estudo foi realizado em colaboração com o Laboratório de Fisiologia Endócrina do Instituto de Biologia Roberto Alcântara Borges da Universidade do Estado do Rio de Janeiro sob supervisão de Prof^o Egberto Gaspar de Moura e Prof^a Patrícia Lisboa.

A pesquisa gerou três artigos, sendo um de revisão bibliográfica e dois originais. O artigo de revisão bibliográfica intitulado “Influência da atividade física na modulação da insulina e leptina programada no período perinatal” foi aprovado pela Revista Nutrição Brasil, sendo publicado na edição jul/ago 2012. Esta revista é classificada com *qualis* B5 no comitê de Medicina II da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

Os demais artigos são originais e apresentados como resultados da presente pesquisa. Um deles com o título: “Effects of a moderate physical training on the leptin synthesis by adipose tissue of adult rats submitted to a perinatal low-protein diet” foi submetido a revista *Hormone and Metabolic Research*. Esta revista é classificada com *qualis* A2 no comitê de Medicina II da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES). E o segundo, possui o título: “Efeito da atividade física voluntária sobre o desenvolvimento somático, consumo alimentar e parâmetros bioquímicos de ratos do desmame até os 90 dias de idade” foi submetido à Revista Brasileira de Medicina do Esporte. Esta revista é classificada com *qualis* B4 no comitê de Medicina II da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

1.1 Objetivos

Objetivo geral

Avaliar a influência do treinamento físico moderado e da atividade física voluntária na plasticidade fenotípica de ratos.

Objetivos específicos

- Avaliar os efeitos do treinamento físico moderado em ratos desnutridos na gestação e lactação, sobre:
 - Os índices de sobrepeso / obesidade (peso corporal, comprimento corporal e índice de massa corporal).
 - Leptina do tecido adiposo visceral e subcutâneo.
- Avaliar os efeitos da atividade física voluntária, em ratos em desenvolvimento, sobre:
 - Os índices de sobrepeso / obesidade (peso e comprimento corporal, percentual de ganho de peso corporal, circunferência torácica e abdominal e índice de massa corporal).
 - O consumo alimentar e hídrico.
 - Índices séricos de glicose, colesterol, triglicerídeos e proteínas totais.

1.2 Hipóteses

O treinamento físico atenua os efeitos de uma dieta perinatal de baixo-proteína sobre a síntese de leptina no tecido adiposo.

Atividade física voluntária induz um melhora perfil somático e metabólico de ratos durante o desenvolvimento.

ARTIGO DE REVISÃO DE LITERATURA

2 ARTIGO DE REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Revista Nutrição Brasil (B5)

Tipo de publicação: Revisões de publicações

Título: Influência da atividade física na modulação da insulina e leptina programada no período perinatal

Nome dos autores:

Iracema Hermes Pires-de-Mélo

Flávia Karina Wanderley dos Reis

Raul Manhães-de-Castro

Sandra Lopes de Souza

Carol Góis Leandro

Universidade Federal de Pernambuco - Brasil

Endereço para correspondência:

Iracema Hermes Pires-de-Mélo Montenegro

Rua Prof Moraes Rego, 1235 – CEP: 50670-901 – Departamento de Nutrição

Cidade Universitária - Recife, PE – Brasil.

Telefone: (81) 21268463. Fax: (81) 21268473

E-mail: iracemamelo@hotmail.com

REVISÃO

Influência da atividade física na modulação da insulina e leptina programada pela desnutrição perinatal

Influence of physical activity on the modulation of insulin and leptin programmed by perinatal malnutrition

Iracema Hermes Pires-de-Melo*, Flávia Karina Wanderley dos Reis*, Raul Manhães-de-Castro*, Sandra Lopes de Souza**, Carol Góis Leandro***

*Departamento de Nutrição, Universidade Federal de Pernambuco, Recife/PE, **Departamento de Anatomia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife/PE, ***Centro Acadêmico de Vitória, Universidade Federal de Pernambuco, Vitória de Santo Antão/PE

Resumo

Existe considerável evidência para a indução de diferentes fenótipos em resposta às variações no ambiente fetal e neonatal. O aporte inadequado de nutrientes no período crítico do desenvolvimento está associado com risco alto de doenças metabólicas na vida adulta. O estilo de vida do indivíduo, que inclui dietas hipercalóricas e sedentarismo, parece estar relacionado ao aparecimento precoce de doenças do metabolismo. Estudos têm demonstrado que a atividade física regular pode melhorar o perfil lipídico no sangue, a pressão arterial e a expressão de proteínas da cascata de sinalização da insulina e leptina. Assim, dentro do contexto da indução do fenótipo, serão discutidos os efeitos da desnutrição fetal e neonatal e, do possível papel modulador da atividade física regular no aparecimento da síndrome metabólica.

Palavras-chave: programação fetal, desnutrição proteica, atividade física, síndrome metabólica.

Abstract

There is considerable evidence for the induction of different phenotypes by variations in fetal and neonatal environment. Undernutrition during the critical period of development is associated with risk of metabolic disease in adult life. The life style in adult life including hypercaloric diets and physical inactivity is related to precoce onset of metabolic diseases. Various studies have demonstrated that regular physical activity can improve the blood lipids profile, blood pressure, and expression of proteins in the pathway of insulin and leptin signalization. Thus, into the context of phenotype induction, this literature review discuss the effects of a fetal and neonatal undernutrition. In addition, it will be discussed the modulator role of regular physical activity in the onset of metabolic syndrome.

Key-words: fetal programming, protein malnutrition, physical activity, metabolic syndrome.

Recebido 17 de março de 2011; aceito 15 de agosto de 2011.

Endereço para correspondência: Iracema Hermes Pires-de-Melo Montenegro, UFPE Departamento de Nutrição Rua Prof Moraes Reis. Cidade Universitária 1235 50670-901 Recife PE. Tel: (81) 2126-8463. E-mail: iracemamelos@hotmail.com

Introdução

O desenvolvimento do organismo ocorre em grande intensidade da gestação a primeira infância devido ao crescimento rápido, maturação de órgãos e sistemas, replicação e diferenciação celular [1]. Alterações nesse período, chamado "período crítico do desenvolvimento" (PCD), podem ser irreversíveis [2].

A oferta adequada de nutrientes é imprescindível para a manutenção do crescimento e desenvolvimento dos sistemas fisiológicos [3,4]. O aporte inadequado de nutrientes pode alterar o padrão dos eventos morfogênicos que ocorrem nesta fase, com consequências deletérias para o desenvolvimento e a aquisição dos padrões fisiológicos maduros do organismo [5,6]. Vários estudos têm demonstrado que a falta de nutrientes durante a vida fetal e neonatal tem repercussões tardias no filhote, podendo comprometer diversos sistemas [7,8]. Ratos desnutridos na gestação e lactação apresentam hiperinsulinemia na vida adulta [9]. Quando desnutridos na lactação desenvolvem hiperleptinemia aos 150 dias de vida [10]. Estudos do nosso grupo utilizando ratos como modelo experimental tem demonstrado que a dieta multideficiente (7% proteína) durante a lactação pode influenciar o comportamento alimentar, a ontogênese dos reflexos, as propriedades mecânicas do músculo esquelético e a atividade locomotora de ratos na vida adulta [11-14]. Restrição proteica materna (caseína 8%) durante o período crítico altera a taxa de crescimento, as estruturas e funções das células pancreáticas, eleva a pressão sanguínea, aumenta a intolerância à glicose e a obesidade nos filhotes quando adultos [15-17]. Os efeitos da programação fetal no aparecimento precoce de doenças metabólicas têm associação direta com o estilo de vida que inclui dieta hipercalórica e inatividade física [18].

A inatividade física pode potencializar o aparecimento precoce de distúrbios metabólicos [19]. Por outro lado, indivíduos ativos possuem menor risco de desenvolver obesidade, hipertensão, dislipidemia, resistência à insulina e leptina e doenças correlatas [20-22]. Os estudos que envolvem a atividade física têm contribuído para o entendimento dos mecanismos subjacentes aos benefícios de um estilo de vida ativo. Entretanto, é de interesse o questionamento acerca das repercussões na vida adulta de indivíduos desnutridos no período perinatal, que passaram a realizar atividade física regularmente.

Assim, com base no modelo da influência fenotípica, esta revisão tem como objetivo abordar as bases teóricas das repercussões da desnutrição perinatal na vida adulta e o possível papel modulador da atividade física sobre o metabolismo energético.

A nutrição como modelo de programação fetal

Uma alimentação balanceada é essencial para o desenvolvimento e crescimento adequado dos sistemas e manutenção de uma boa condição física do indivíduo [23]. De acordo com a particularidade das etapas iniciais do crescimento (gestação, lactação ou primeira infância) e da espécie a ser estudada, a janela crítica do desenvolvimento pode se abrir e a falta ou excesso de nutrientes pode induzir alterações permanentes na estrutura e função de órgãos e sistemas [1]. Essa janela crítica é chamada de "período crítico do desenvolvimento" sendo caracterizada pelo crescimento rápido, maturação de órgãos e sistemas, replicação e diferenciação celular [1]. Esse período varia temporalmente de acordo com a espécie e com o sistema a ser estudado [1]. Em humanos, o período de susceptibilidade do sistema nervoso dá-se do terceiro trimestre de desenvolvimento intra-uterino e continua por dois a quatro anos após o nascimento [2]. Em roedores, a diferenciação dos sistemas neuronais que regulam a homeostase energética, tem início durante a gestação, e continua até o desmame [24]. No coração, o período crítico do desenvolvimento ocorre entre a terceira a quinta semana de gestação no homem e na segunda semana de gestacional de camundongos [25,26]. Influências ambientais nessa fase de susceptibilidade podem interferir no desenvolvimento do organismo [27,28]. O fenômeno biológico que refere aos insultos no início da vida e alterações na idade adulta é definido como programação fetal [29].

Em períodos precoces da vida, o organismo se adapta ao ambiente, caso as condições iniciais da vida se alterem, essa adaptação pode se tornar deletéria ocasionando, por exemplo, doenças relacionadas ao metabolismo [7,30-32]. Em ratos, uma dieta hiperlipídica durante a lactação promove distúrbios metabólicos que repercutem em resistência à insulina na vida adulta [33]. Filhotes de ratas submetidas a diferentes agentes estressores (36 horas de luz, ruído à noite, 5 minutos de retenção, 15 min de odor do predador, mudanças de gaiola e umidade na gaiola) durante 7 dias iniciais da gestação apresentam uma redução no percentual de gordura corporal e aumento da massa magra que estabelecem posteriormente comportamento alimentar hiperfágico [34]. A desnutrição proteica durante a gestação e lactação induz hiperfagia em filhotes de ratos aos 8 meses de vida [35]. A desnutrição no período crítico do desenvolvimento, em humanos e animais, pode ter consequências, inclusive, nas gerações subsequentes [36,37]. O menor peso ao nascer materno esteve associado com um risco aumentado de intolerância à glicose, aumento das concentrações de colesterol e triacilglicerídeos, e maior pressão arterial

sistólica da descendência [36]. A segunda geração de animais sob restrição protéica na lactação apresentou hiperglicemia, hiperinsulinemia e hiperleptinemia [37]. O déficit nutricional no período crítico do desenvolvimento tem sido proposto como programador de doenças metabólicas e cardiovasculares na vida adulta [38].

Doenças metabólicas como consequência da desnutrição precoce: ação moduladora da insulina e da leptina

A obesidade é evidenciada como a precursora de doenças metabólicas e cardiovasculares [39]. A hiperfagia com consequente *catch up* do crescimento é a provável causa do excesso de peso na vida adulta de indivíduos que sofreram desnutrição precoce [40,41]. Ratos adultos desnutridos na gestação e/ou lactação apresentaram hiperfagia, hiperglicemia e consequente aumento da gordura corporal [35,42,43]. Na vida adulta, animais desnutridos na gestação e lactação apresentam aumento dos triglicerídeos e ácidos graxos plasmáticos com diminuição do colesterol HDL [9,32,35,40].

Alguns estudos tem relacionado a desnutrição em períodos críticos do desenvolvimento com a ação de hormônios, por exemplo a insulina e a leptina [10,17]. A insulina e a leptina participam da regulação do metabolismo energético e agem de forma agonista [44]. Estes hormônios atuam na redução da ingestão alimentar e no balanço energético, sinalizando de forma direta a adiposidade visceral [44]. Com o aumento do peso, a glicemia aumenta e, consequentemente a secreção de insulina deve aumentar para manter a homeostase energética [45,46]. A concentração da leptina plasmática, em humanos, aumenta em 300% quando ocorre um aumento de 10% do peso corporal [47]. Na obesidade, níveis circulantes de leptina e insulina são elevados devido ao aumento da gordura corporal e presença de resistência à insulina [48].

Na idade adulta após o *catch up* do crescimento ocorre hiperinsulinemia que favorece a hiperleptinemia [41]. Aos 180 dias, é possível observar em ratos desnutridos na lactação a hiperinsulinemia decorrente da hiperglicemia [42]. Ratos desnutridos na gestação e lactação apresentam hiperinsulinemia com resistência à insulina, na vida adulta [9,40]. Animais sob restrição protéica ou energética na lactação apresentaram hiperleptinemia com resistência aos efeitos anorexígenos da leptina aos 150 dias de vida [10,15]. O desenvolvimento de resistência à leptina no músculo esquelético parece está relacionado ao aumento da expressão RNAm da proteína supressora da sinalização da citocina 3 (SOCS3) [49]. Essa proteína é responsá-

vel pela inativação da Janus quinase 2 (JAK2), proteína sinalizadora da leptina [50]. Porém, os mecanismos pelo qual se desenvolve a resistência à leptina ainda precisam ser elucidados.

O hiperinsulinismo é um dos primeiros indicadores metabólicos do aparecimento da obesidade e da diabetes tipo 2 [51]. Em quadros de resistência à insulina, a concentração de ácidos graxos intracelular está elevada e a ação da insulina reduzida [52-54]. A atividade glicolítica e captação de glicose muscular estimulada pela insulina apresentam-se reduzidas [54]. Como consequência, há aumento no conteúdo de glicose-6-fosfato, causando acúmulo de glicose intracelular e, portanto, redução do seu transporte [55]. Outros estudos sugerem mecanismos diferentes para o desenvolvimento da resistência à insulina. Jovens que nasceram com baixo peso ao nascer apresentaram redução da expressão da enzima fosfatidilinositol 3-quinase (PI3-quinase) e consequentemente do transportador de glicose GLUT 4 [56]. No músculo esquelético de roedores resistentes à insulina há uma redução do substrato do receptor de insulina 1 (IRS-1) associado à fosfotinositil 3 quinase (PI 3-quinase), reduzindo a ativação das outras proteínas da cascata de sinalização e consequentemente a captação de glicose [57]. A elevação da concentração sanguínea de ácidos graxos parece ser uma das principais causas da resistência à insulina no músculo esquelético [58].

A leptina pode induzir alterações na expressão gênica da insulina atuando em alguns componentes da cascata de sinalização da insulina via substratos dos receptores de insulina (IRS-1) e PI 3-quinase [59]. Células hepáticas em cultura estimuladas com leptina não apresentaram efeitos sobre a via de sinalização da insulina, mas quando estimuladas com leptina e insulina induziu a fosforilação da tirosina para ativar a ligação da IRS-1 à PI 3-quinase, e consequentemente transportar glicose para o meio intra-celular [59]. Existem interações complexas entre a leptina e a insulina [60]. A insulinemia parece ser um importante modulador da leptinemia [60,61]. Porém, apesar dos mecanismos envolvidos na interação desses dois hormônios ainda não serem claros, sabe-se que em excesso são indicadores do desenvolvimento de obesidade e doenças cardiovasculares [48,51].

As doenças crônico-degenerativas, que podem ser consequência da escassez de nutrientes no período crítico de desenvolvimento, têm sido associadas à alta taxa de mortalidade em vários países [62,63]. No Brasil e na China, estudos epidemiológicos apontam diminuição da desnutrição infantil e aumento do sobrepeso/obesidade em adultos [62,64,65]. O estilo de vida está bem relacionado a essa prevalência [66]. A inatividade física associada ao consumo aumentado

de dietas hiperlipídicas e hipercalóricas têm elevado a incidência de doenças cardiovasculares e diabetes tipo 2 [64,67]. Um estudo envolvendo o cenário da "fome holandesa" indica que recém-nascidos com baixo peso ao nascer tendem a possuir um estilo de vida inativo e uma maior ingestão de alimentos hipercalóricos contribuindo para o aparecimento da síndrome metabólica na fase adulta [18]. Estratégias de intervenção que incluam mudanças no estilo de vida, como uma dieta equilibrada e a prática de atividade física têm sido propostas [67-70].

Atividade física e doenças cardiovasculares relacionadas à programação fetal

A atividade física regular está relacionada à diminuição do risco de desenvolver obesidade e doenças correlatas [71,72]. O termo atividade física refere a qualquer movimento do músculo esquelético que demande gasto energético. Quanto ao nível de atividade física, o indivíduo pode ser classificado como ativo ou inativo a depender da quantidade de calorias semanais gastas em um esforço físico [73]. Assim, um indivíduo é considerado ativo quando se engaja em atividades físicas (caminhadas, *jogging*, andar de bicicleta, natação, atividades domésticas, atividades no trabalho, atividades de lazer e recreação) durante 30 minutos levando a um dispêndio energético acima do metabolismo basal em torno de 1500 kcal/semana [73].

O exercício físico e o treinamento físico referem à atividade física realizada sistematicamente seguindo a magnitude do esforço (intensidade, duração, frequência e tipo) [74]. Quanto à intensidade, o exercício físico pode ser classificado como leve, moderado e intenso. Essa classificação toma como base a realização de testes de esforço máximo para avaliar o aumento da concentração de lactato no sangue, o consumo máximo de oxigênio (VO_{2max}), ou a frequência cardíaca máxima (FC_{max}). Em exercícios de intensidade leve e moderada, a concentração de lactato no sangue permanece estável (variando entre 2 até 4 mmol/L), ou seja, o lactato é produzido em menores concentrações [74]. O VO_{2max} e a FC_{max} são os parâmetros fisiológicos mais comumente utilizados em estudos para referenciar a intensidade do esforço. Assim, um exercício leve geralmente refere de 20 a 50% do VO_{2max} e da FC_{max} , um exercício moderado de 50-70% do VO_{2max} e da FC_{max} e o exercício intenso acima de 80% do VO_{2max} e da FC_{max} [75].

Quando o exercício físico é realizado de forma sistemática e com a intensidade do esforço controlada, passa-se a referir como treinamento físico. Assim como o exercício físico, o treinamento físico pode ser classificado como leve, moderado e intenso [71]. O

treinamento físico a 65-80% do VO_{2max} ou 70-85% da FC_{max} está associado ao aumento do metabolismo oxidativo e melhoria da capacidade física [76].

Evidências dos benefícios da atividade física para a saúde podem ser observadas em estudos com humanos e animais [20,77]. Indivíduos ativos (determinado pelo nível de atividade da vida diária) apresentaram redução de 12 a 14% no risco de desenvolver doenças cardiovasculares [77,78]. Adolescentes que realizam atividade física possuem 33% menos de chance de desenvolver a síndrome metabólica [79]. Um programa de intervenção interdisciplinar que incentivou a atividade física em adolescentes por 20 meses resultou em redução nas dobras subcutâneas de adiposidade abdominal e redução de 12 a 14% no risco de desenvolver doenças cardiovasculares [22]. É bem estabelecido que a atividade física atenua as dislipidemias, reduzindo os triglicerídeos séricos e aumentando o colesterol HDL [21]. Em ratos, a atividade física voluntária (corrida em cicloergômetro por 5 semanas) diminuiu o percentual de gordura na região epididimal [20].

Apesar de estudos que avaliem os efeitos da atividade física voluntária sobre o metabolismo energético serem escassos, pesquisas envolvendo o treinamento físico e a síndrome metabólica são mais frequentes. Em humanos, o treinamento físico moderado (exercício aeróbico, 3 vezes por semana durante 16 semanas) reduz a pressão arterial, o peso corporal e a gordura corporal, a glicemia, a lipogênese e melhora a sinalização da insulina no tecido muscular e adiposo [80]. O treinamento moderado de *endurance* resistido (ciclismo por 5 semanas) diminui a resistência à insulina [81]. Adolescentes obesos submetidos a um programa de treinamento físico moderado e restrição energética apresentaram melhora em sua capacidade de oxidar lipídios, que está associada a uma normalização da concentração sérica de leptina, resultando em uma melhora a sensibilidade insulínica [82]. Mulheres obesas submetidas ao exercício físico e à restrição calórica, a partir de 2 semanas, diminuíram a concentração de leptina sanguínea e após 14 semanas diminuíram a cintura abdominal e a massa corporal [83]. Em animais obesos, observou-se que o treinamento físico aeróbico moderado (corrida em esteira a 20 m/min, 1 h/dia, 7 dias/semana, durante 8 semanas) atenua a resistência à insulina [84]. Há um aumento na ativação do IRS1 associado a PI3-quinase que aumenta a captação da glicose para o meio intracelular pelo GLUT-4 [84]. Em ratos sob dieta hiperlipídica, o treinamento de *endurance* foi eficaz na prevenção do desenvolvimento de resistência à leptina, embora não tenha diminuído a expressão da SOCS3 [49].

A atividade física e o treinamento físico parecem minimizar os efeitos da programação induzida pela

desnutrição perinatal [85-87]. Crianças desnutridas estimuladas a realizar atividade física regular apresentaram maior altura e peso corporal quando comparadas aos seus pares inativos [85]. O consumo de oxigênio no repouso, quantidade de energia que pode ser produzida pelo metabolismo aeróbio por determinada unidade de tempo, é maior em ratos desnutridos (caseína 8%) sob treinamento de *endurance* natação [88]. As pesquisas que envolvem atividade física em animais ainda necessitam de mais estudos e uma padronização de uma técnica aplicável para quantificar essa atividade ainda não tem sido estabelecida. Assim, estudos que avaliem os efeitos a longo-prazo da atividade física associada ou não à nutrição durante a gestação devem ser priorizados.

Em conclusão, o ambiente materno influencia o crescimento e o desenvolvimento do filho. Vários estudos têm demonstrado o efeito do aporte inadequado de nutrientes durante a gestação e a ocorrência de doenças na vida adulta. O estilo de vida após o período de restrição representado pelo nível de atividade física induz alterações no aporte de substratos e oxigênio para o músculo e o tecido adiposo. Neste sentido, é provável que a atividade física possa estar relacionada a alterações metabólicas e atenuar os efeitos da programação fetal induzida pela desnutrição.

Agradecimentos

Grupo Nutrição, Neuropsicofarmacologia e Imunidade – NNI do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco. Financiamento: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Capes e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Cnpq.

Referências

1. Dobbing J, Sands J. Cell size and cell number in tissue growth and development. An old hypothesis reconsidered. *Arch Fr Pediatr* 1985;42(3):199-203.
2. Dobbing J. The development of the blood-brain barrier. *Prog Brain Res* 1968;29:417-27.
3. Liu N et al. The effect of health and nutrition education intervention on women's postpartum beliefs and practices: a randomized controlled trial. *BMC Public Health* 2009;9:45.
4. Herberg S, Chat-Yung S, Chaulia M. The French National Nutrition and Health Program: 2001-2006-2010. *Int J Public Health* 2008;53(2):68-77.
5. Resnick O et al. Developmental protein malnutrition: influences on the central nervous system of the rat. *Neurosci Biobehav Rev* 1979;3(4):233-46.
6. Noback CR, Eisenman LM. Some effects of protein-calorie undernutrition on the developing central nervous system of the rat. *Anat Rec* 1981;201(1):67-73.

7. Hales CN, Barker DJ. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. *Diabetologia* 1992;35(7):595-601.
8. Barker DJ et al. Growth in utero, blood pressure in childhood and adult life, and mortality from cardiovascular disease. *BMJ* 1989;298(6673):564-7.
9. Jeppesen J et al. Relation between insulin resistance, hyperinsulinemia, postheparin plasma lipoprotein lipase activity, and postprandial lipemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995;15(3):320-4.
10. Vicente LL et al. Malnutrition during lactation in rats is associated with higher expression of leptin receptor in the pituitary of adult offspring. *Nutrition* 2004;20(10):924-8.
11. Barreto Medeiros JM et al. Early malnourished rats are not affected by anorexia induced by a selective serotonin reuptake inhibitor in adult life. *Nutr Neurosci* 2002;5(3):211-4.
12. Barreto-Medeiros JM et al. Malnutrition during brain growth spurt alters the effect of fluoxetine on aggressive behavior in adult rats. *Nutr Neurosci* 2004;7(1):49-52.
13. Barros KM et al. A regional model (Northeastern Brazil) of induced mal-nutrition delays ontogeny of reflexes and locomotor activity in rats. *Nutr Neurosci* 2006;9(1-2):99-104.
14. Toscano AE, Manhaes-de-Castro R, Canon F. Effect of a low-protein diet during pregnancy on skeletal muscle mechanical properties of offspring rats. *Nutrition* 2008;24(3):270-8.
15. Passos MC et al. The effect of protein or energy restriction on the biodistribution of Na^{99m}TcM₂O₄ in Wistar rats. *Nucl Med Commun* 2000;21(11):1059-62.
16. Ozanne SE, Hales CN. Pre- and early postnatal nongenetic determinants of type 2 diabetes. *Expert Rev Mol Med* 2002;4(24):1-14.
17. Ozanne SE, Hales CN. Early programming of glucose-insulin metabolism. *Trends Endocrinol Metab* 2002;13(9):368-73.
18. Lussana F et al. Prenatal exposure to the Dutch famine is associated with a preference for fatty foods and a more atherogenic lipid profile. *Am J Clin Nutr* 2008;88(6):1648-52.
19. Goodyear LJ, Kahn BB. Exercise, glucose transport, and insulin sensitivity. *Annu Rev Med* 1998;49:235-61.
20. Fedic S, Campbell JE, Riddell MC. Effect of voluntary wheel running on circadian corticosterone release and on HPA axis responsiveness to restraint stress in Sprague-Dawley rats. *J Appl Physiol* 2006;100(6):1867-75.
21. Dancy C, Lohsoonthorn V, Williams MA. Risk of dyslipidemia in relation to level of physical activity among Thai professional and office workers. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2008;39(5):932-41.
22. Singh AS et al. Dutch obesity intervention in teenagers: effectiveness of a school-based program on body composition and behavior. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2009;163(4):309-17.
23. Li L et al. Effect of balanced diet on the nutrition status of schoolchildren in the mountain area. *Wei Sheng Yan Jiu* 2006;35(5):625-7.
24. Grove KL et al. Development of metabolic systems. *Physiol Behav* 2005;86(5):646-60.

25. Sadler TW. Susceptible periods during embryogenesis of the heart and endocrine glands. *Environ Health Perspect* 2000;108(Suppl 3):555-61.
26. Garcia-Martinez V, Schoenwolf GC. Primitive-streak origin of the cardiovascular system in avian embryos. *Dev Biol* 1993;159(2):706-19.
27. Morgane PJ et al. The effects of protein malnutrition on the developing central nervous system in the rat. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 1978;2:137-230.
28. Dubos R, Savage D, Schaedler R. Biological Freudianism: lasting effects of early environmental influences. 1966. *Int J Epidemiol* 2005;34(1):5-12.
29. Lucas A. Programming by early nutrition in man. *Ciba Found Symp* 1991;156:38-50; discussion 50-5.
30. Mortaz M et al. Birth weight, subsequent growth, and cholesterol metabolism in children 8-12 years old born preterm. *Arch Dis Child* 2001;84(3):212-7.
31. Morley R, Lucas A. Randomized diet in the neonatal period and growth performance until 7.5-8 y of age in preterm children. *Am J Clin Nutr*, 2000. 71(3): p. 822-8.
32. Lucas A et al. Nutrition in pregnant or lactating rats programs lipid metabolism in the offspring. *Br J Nutr* 1996;76(4):605-12.
33. Gorski JN et al. Prenatal environment overrides genetic and prenatal factors influencing offspring obesity and insulin resistance. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2006;291(3):R768-78.
34. Pankevich DE et al. Prenatal stress programming of offspring feeding behavior and energy balance begins early in pregnancy. *Physiol Behav* 2009;98(1-2):94-102.
35. Orozco-Solis R et al. Perinatal undernutrition-induced obesity is independent of the developmental programming of feeding. *Physiol Behav* 2009;96(3):481-92.
36. Veena SR et al. Relationships of maternal and paternal birthweights to features of the metabolic syndrome in adult offspring: an inter-generational study in South India. *Diabetologia* 2007;50(1):43-54.
37. Pinheiro AR et al. Protein restriction during gestation and/or lactation causes adverse transgenerational effects on biometry and glucose metabolism in F1 and F2 progenies of rats. *Clin Sci (Lond)* 2008;114(5):381-92.
38. Porrello ER, Widdop RE, Delbridge LM. Early origins of cardiac hypertrophy: does cardiomyocyte attrition programme for pathological 'catch-up' growth of the heart? *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2008;35(11):1358-64.
39. Park SH et al. Waist Circumference and Waist-to-Height Ratio as Predictors of Cardiovascular Disease Risk in Korean Adults. *Circ J* 2009;73(9):1643-50.
40. Bieswal F et al. The importance of catch-up growth after early malnutrition for the programming of obesity in male rat. *Obesity (Silver Spring)*, 2006;14(8):1330-43.
41. Coupe B et al. The timing of "catch-up growth" affects metabolism and appetite regulation in male rats born with intra-uterine growth restriction. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2009;297(3):R813-24.
42. Fagundes AT et al. Maternal low-protein diet during lactation programmes body composition and glucose homeostasis in the adult rat offspring. *Br J Nutr* 2007;98(5):922-8.
43. Minana-Solis MdC, Escobar C. Post-weaning protein malnutrition in the rat produces short and long term metabolic impairment, in contrast to earlier and later periods. *Int J Biol Sci*, 2008;4(6):422-32.
44. Stockhorst U et al. Insulin and the CNS: effects on food intake, memory, and endocrine parameters and the role of intranasal insulin administration in humans. *Physiol Behav* 2004;83(1):47-54.
45. Polonsky KS, Given BD, Van Cauter E. Twenty-four-hour profiles and pulsatile patterns of insulin secretion in normal and obese subjects. *J Clin Invest* 1988;81(2):442-8.
46. Kahn SE et al. Quantification of the relationship between insulin sensitivity and beta-cell function in human subjects. Evidence for a hyperbolic function. *Diabetes*, 1993;42(11):1663-72.
47. Kolaczynski JW et al. Response of leptin to short-term and prolonged overfeeding in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81(11):4162-5.
48. Jequier E, Tappy L. Regulation of body weight in humans. *Physiol Rev* 1999;79(2):451-80.
49. Steinberg GR et al. Endurance training partially reverses dietary-induced leptin resistance in rodent skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2004;286(1):E57-63.
50. Bjorbak C et al. SOCS3 mediates feedback inhibition of the leptin receptor via Tyr985. *J Biol Chem* 2000;275(51):40649-57.
51. Chen NG, Swick AG, Romsos DR. Leptin constrains acetylcholine-induced insulin secretion from pancreatic islets of ob/ob mice. *J Clin Invest* 1997;100(5):1174-9.
52. Gallant M et al. Biological effects of THC and a lipophilic cannabis extract on normal and insulin resistant 3T3-L1 adipocytes. *Phytomedicine* 2009;16(10):942-9.
53. Hunnicutt JW et al. Saturated fatty acid-induced insulin resistance in rat adipocytes. *Diabetes* 1994;43(4):540-5.
54. Kim JK, Wi JK, Youn JH. Metabolic impairment precedes insulin resistance in skeletal muscle during high-fat feeding in rats. *Diabetes* 1996;45(5):651-8.
55. Randle PJ. Control of Insulin Secretion in Health and Disease. *Isr Med J* 1963;22:408-19.
56. Ozanne SE et al. Low birthweight is associated with specific changes in muscle insulin-signalling protein expression. *Diabetologia* 2005;48(3):547-52.
57. Kerouz NJ et al. Differential regulation of insulin receptor substrates-1 and -2 (IRS-1 and IRS-2) and phosphatidylinositol 3-kinase isoforms in liver and muscle of the obese diabetic (ob/ob) mouse. *J Clin Invest* 1997;100(12):3164-72.
58. Silveira LR et al. Updating the effects of fatty acids on skeletal muscle. *J Cell Physiol* 2008;217(1):1-12.
59. Szanto I, Kahn CR. Selective interaction between leptin and insulin signaling pathways in a hepatic cell line. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;97(5):2355-60.
60. Veniant MM, LeBel CP. Leptin: from animals to humans. *Curr Pharm Des* 2003;9(10):811-8.
61. Koutsari C et al. Plasma leptin is influenced by diet composition and exercise. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2003;27(8):901-6.

62. Batista Filho M, Rissin A, [Nutritional transition in Brazil: geographic and temporal trends]. *Cad Saude Publica* 2003;19(Suppl 1):S181-91.
63. Dietz WH, Benken DE, Hunter AS, Public health law and the prevention and control of obesity. *Milbank Q* 2009;87(1):215-27.
64. Popkin BM. Nutrition in transition: the changing global nutrition challenge. *Asia Pac J Clin Nutr* 2001;10(Suppl):S13-8.
65. Batista Filho M et al. [Anemia and obesity: a paradox of the nutritional transition in Brazil]. *Cad Saude Publica* 2008;24(Suppl 2):S247-57.
66. Dominguez LJ et al. Blood pressure and cardiovascular risk profiles of Africans who migrate to a Western country. *Ethn Dis* 2008;18(4):512-8.
67. WHO, W.H.O.-. Diet, nutrition and prevention of chronic diseases. 2003, Geneva: World Health Organization - WHO.
68. Gupta R. Recent trends in coronary heart disease epidemiology in India. *Indian Heart J* 2008;60(2 Suppl B):B4-18.
69. Schramm JMdA et al. Transição epidemiológica e o estudo de carga de doença no Brasil. *Ciência & Saúde Coletiva* 2004;9(4):897-908.
70. Ivanovic D, Castro CG, Ivanovic R. Food and nutrition knowledge of elementary and high school-age children from Chile's Metropolitan Region. *Rev Med Chil* 1996;124(9):1058-70.
71. Leandro CG et al. Physical training attenuates the stress-induced changes in rat T-lymphocyte function. *Neuroimmunomodulation* 2006;13(2):105-13.
72. Coppen AM, Rissin JA, Vash PD. Metabolic syndrome resolution in children and adolescents after 10 weeks of weight loss. *J Cardiometab Syndr* 2008;3(4):205-10.
73. Perkins CC et al. Physical activity and fetal growth during pregnancy. *Obstet Gynecol* 2007;109(1):81-7.
74. Silveira L, Denadai BS. Efeito modulatório de diferentes intensidades de esforço sobre a via glicolítica durante o exercício contínuo e intermitente. *Rev Paul Educ Fis* 2002;16:186-97.
75. Leandro CG et al. A program of moderate physical training for Wistar rats based on maximal oxygen consumption. *J Strength Cond Res* 2007;21(3):751-6.
76. Brum PC et al. Adaptações agudas e crônicas do exercício físico no sistema cardiovascular. *Rev Paul Educ Fis* 2004;18:21-31.
77. Bener A et al. Prevalence of metabolic syndrome according to adult treatment panel iii and international diabetes federation criteria: a population-based study. *Metab Syndr Relat Disord* 2009;7(3):221-9.
78. Maruthur NM, Wang NY, Appel LJ. Lifestyle Interventions Reduce Coronary Heart Disease Risk. Results From the PREMIER Trial. *Circulation* 2009;119(15):2026-31.
79. Ekelund U et al. Prevalence and correlates of the metabolic syndrome in a population-based sample of European youth. *Am J Clin Nutr* 2009;89(1):90-6.
80. Tjonna, A.E., et al. Aerobic interval training versus continuous moderate exercise as a treatment for the metabolic syndrome: a pilot study. *Circulation* 2008;118(4):346-54.
81. Zoladz JA et al. Endurance training increases plasma brain-derived neurotrophic factor concentration in young healthy men. *J Physiol Pharmacol* 2008;59(Suppl 7):119-32.
82. Elloumi M et al. Effect of individualized weight-loss programmes on adiponectin, leptin and resistin levels in obese adolescent boys. *Acta Paediatr* 2009;98(9):1487-93.
83. Kerkick C et al. Effects of a popular exercise and weight loss program on weight loss, body composition, energy expenditure and health in obese women. *Nutr Metab* 2009;6:23.
84. Su CF et al. Mediation of beta-endorphin in exercise-induced improvement in insulin resistance in obese Zucker rats. *Diabetes Metab Res Rev* 2005;21(2):175-82.
85. Torun B, Viteri FE. Influence of exercise on linear growth. *Eur J Clin Nutr* 1994;48(Suppl 1):S186-9.
86. de-Mello MA. Effects of intrauterine and postnatal protein-calorie malnutrition on metabolic adaptations to exercise in young rats. *Braz J Med Biol Res* 1994;27(10):2461-6.
87. Oakes ND et al. Mechanisms of liver and muscle insulin resistance induced by chronic high-fat feeding. *Diabetes* 1997;46(11):1768-74.
88. Hansen-Smith FM, Maksud MG, VanHorn DL. Influence of chronic undernutrition on oxygen consumption of rats during exercise. *Growth* 1977;41(2):115-21.

MÉTODOS

3. MÉTODOS

Realizamos o presente estudo em duas etapas. A primeira baseada em um protocolo de treinamento físico moderado existente, avaliamos o peso e comprimento corporal, índice de massa corporal e leptinemia no tecido adiposo em ratos adultos submetidos a desnutrição perinatal (artigo original 1). Na segunda parte, desenvolvemos um protocolo de atividade física voluntária avaliando o comportamento frente à atividade física voluntária, peso e comprimento corporal, consumo alimentar e hídrico e concentrações sérica de colesterol, triglicerídeos e glicose (artigo original 2).

1ª ETAPA – Artigo original 1

Animais e grupos experimentais

Foram utilizados ratos albinos da linhagem *Wistar* da colônia do biotério de criação do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco. Os animais foram mantidos em biotério com temperatura de $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$, ciclo claro-escuro de 12/12h (claro: 17:00 hs às 05:00 hs e escuro: 05:00 hs às 17:00 hs) e livre acesso à alimentação e água.

Animais machos e fêmeas (proporção 1:2, n=16 para fêmeas), com idade entre 90 e 120 dias, foram acasalados. Uma provável concepção foi detectada através da técnica de esfregaço vaginal, essa consiste na coleta da secreção vaginal para verificar a presença de espermatozóides (MARCONDES; BIANCHI; TANNO, 2002).

Uma vez detectado o estado de prenhez, as gestantes foram acomodadas individualmente em gaiolas, e receberam dieta a base de caseína, seguindo as normas da *American Society for Nutrition Sciences* (AIN 93). Assim formam dois grupos experimentais: controle (C: caseína

17%, n=12) e desnutrido (D: caseína 8%, n=12) (tabela 1 e 2) (REEVES; NIELSEN; FAHEY, 1993). Após o nascimento, as mães continuaram recebendo dieta a base de caseína e as ninhadas foram ajustadas para 6 filhotes até o final da lactação. As ninhadas foram misturadas e os filhotes redistribuídos entre as genitores para evitar os efeitos da ninhada. Após o período de lactação, 21 dias de vida, somente os filhotes machos foram utilizados no experimento e a alimentação fornecida foi a dieta padrão do biotério (LABINA, Purina Brasil) (tabela 3).

Tabela 1: Composição centesimal de macronutrientes da dieta experimental isocalórica com diferentes teores de proteína utilizada na alimentação dos animais durante a lactação.

Macronutrientes	% Proteína	
	8 %	17%
%g	100.00	100.00
Proteínas	8.10	17.30
Carboidratos	66.87	58.11
Lipídeos	7.00	7.00
Fibras	1.25	5.00
Vitaminas	3.50	1.25
Minerais	5.00	3.50
Kcal	362.48	363.44

Fonte: FREITAS-SILVA, 2007.

Tabela 2: Composição das dietas (17% e 8% de proteína)

Ingredientes	1 Kg de caseína	
	8 %	17%
Caseína	79,3 g	179,3 g
Mix vitamínico*	10 g	10 g
Mix mineral #	35 g	35 g
Celulose	50 g	50 g
Bitartarato de colina	2,5 g	2,5 g
DL-Metionina	3,0 g	3,0 g
Óleo de soja	70 ml	70 ml
Amido de milho	750,2 g	650,2 g

Mix mineral contendo (mg/kg de dieta): CaHPO₄, 17200; KCl, 4000; NaCl, 4000; MgO, 420; MgSO₄, 2000; Fe₂O₃, 120; FeSO₄·7H₂O, 200; trace elements, 400 (MnSO₄·H₂O, 98; CuSO₄·5H₂O, 20; ZnSO₄·7H₂O, 80; CoSO₄·7H₂O, 0.16; KI, 0.32; sufficient starch to bring to 40 g [por kg de dieta]).

* Mix vitamínico contendo (mg/kg de dieta): retinol, 12; colecalciferol, 0.125; tiamina, 40; riboflavina 30; ácido pantotênico, 140; piridoxina, 20; inositol, 300; cyanocobalamin, 0.1; menadiona, 80; ácido nicotínico, 200; colina, 2720; ácido fólico, 10; ácido p-aminobenzoico, 100; biotina, 0.6.

Fonte: REEVES, 1993.

Tabela 3: Composição centesimal da dieta LABINA (Purina Brasil)*

Composição centesimal (g%)					Kcal%
Proteínas	Carboidratos	Lipídeos	Cinzas	Fibras	
23,27	56,81	4,24	6,60	8,00	358,48

* Itens de enriquecimento por Kg de ração: ácido fólico (14,00 mg), antioxidante (150,00 mg), biotina (0,20 mg), cobalto (2,00 mg), cobre (30,00 mg), colina (2.800,00 mg), ferro (180,00 mg), iodo (2,00 mg), manganês (110,00 mg), niacina (242,00 mg), selênio (0,20 mg), pantotenato de cálcio (100,00 mg), piridoxina (12,00 mg), tiamina (12,00 mg), vitamina A (28.000,00 UI), vitamina B12 (44,00 mg), vitamina B2 (28,00 mg), vitamina D3 (4.400,00 UI), vitamina E (90,00 UI), vitamina K (7,00 mg), zinco (110,00 mg).

Fonte: SILVA, 2008.

Treinamento físico moderado

Aos 63 dias de idade os ratos foram divididos em quatro grupos experimentais, de acordo com a realização do treinamento físico: a) grupo controle não-treinado (C: caseína 17%, n=08); b) grupo controle treinado (T: caseína 17%, treinamento físico, n=08); c) grupo desnutrido não-treinado (D: caseína 8%, n=08) e d) grupo desnutrido treinado (DT: caseína 8%, treinamento físico, n=08) (Figura 1). Os animais treinados foram submetidos a um programa de treino físico moderado, em esteira Motorizada EP-131/Insight Equipamentos Ltda [6 baias individuais com altura de 170 mm, largura interna 97 mm, comprimento de 385 mm] (Figura 2). O protocolo experimental (8 semanas, 5 dias/semana e 60 min/dia a 70% do $VO_2\text{max}$, horário do exercício 3 horas após iniciar o ciclo escuro) foi seguido [Tabela 04] (LEANDRO *et al.*, 2006). O grupo não treinado permaneceu nas gaiolas.

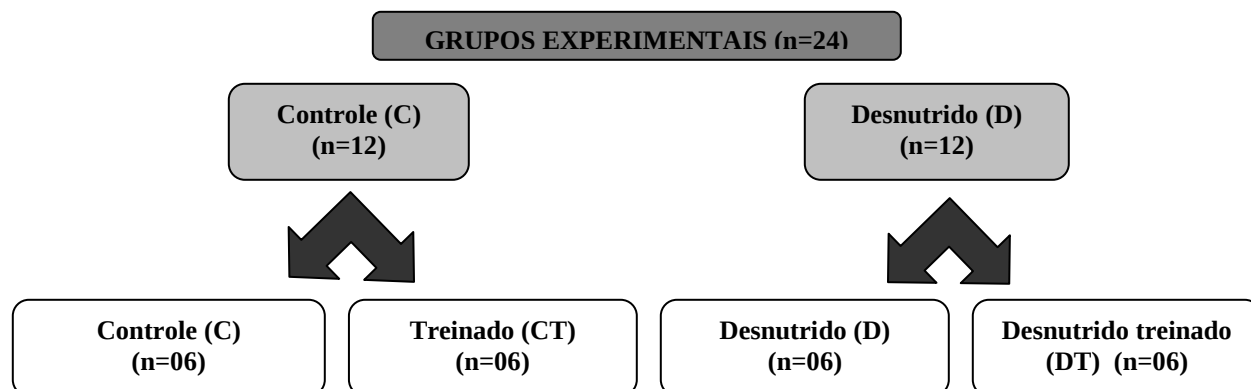
**Figura 1:** Formação dos grupos experimentais (n=24).

Tabela 4: Protocolo de treinamento físico de acordo com a velocidade, inclinação e duração de cada sessão das oito semanas de treinamento.

Semanas	Velocidade (km/h)	Inclinação (°)	Duração (min)
1ª Semana (Adaptação)	0,3	0	5
	0,4	0	5
	0,5	0	5
	0,3	0	5
2ª Semana	0,4	0	5
	0,5	0	20
	0,6	0	30
	0,4	0	5
3ª Semana	0,5	0	5
	0,6	0	10
	0,8	0	10
	0,9	0	30
4ª Semana	0,5	0	5
	0,5	0	5
	0,8	0	10
	0,9	0	10
5ª Semana	1,1	0	30
	0,5	0	5
	0,5	5	5
	0,8	5	10
6ª Semana	0,9	5	10
	1,1	5	30
	0,5	0	5
	0,5	10	5
7ª Semana	0,8	10	10
	0,9	10	10
	1,1	10	30
	0,5	0	5
8ª Semana	0,5	10	5
	0,8	10	10
	0,9	10	10
	1,1	10	30
	0,5	0	5



Figura 2: Animais em treinamento físico moderado na esteira motorizada para ratos (Insight Insight Equipamentos Ltda - EP 131).

Desenho Experimental

Os animais dos diferentes grupos experimentais foram sacrificados aos 118 dias de idade para a realização dos estudos propostos (Figura 3).

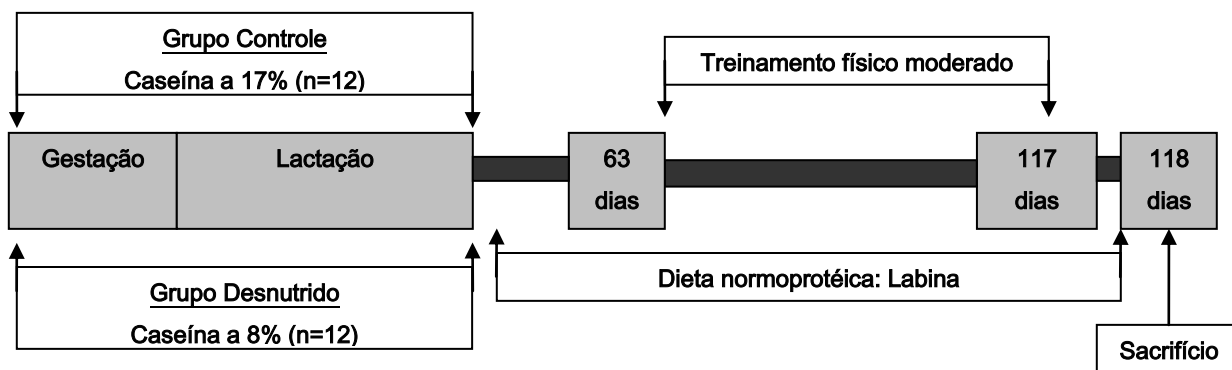


Figura 3: Desenho experimental representando a formação dos diferentes grupos (controle e desnutrido) quanto à manipulação da dieta e do treinamento físico, e o período em que foram sacrificados. O número de animais sacrificados foi o mesmo para os diferentes grupos experimentais.

Avaliação do peso e do comprimento corporal

Medidas de peso corporal

Os filhotes foram pesados individualmente durante todo o período de experimento (nascimento, desmame, 30 e 60 dias de idade e semanalmente durante o treinamento físico) (PIRES-DE-MÉLO et al, 2009).

Peso corporal - O peso corporal dos animais foi registrado através de balança eletrônica digital – Marte, modelo S-4000, com capacidade de 4kg e sensibilidade de 0,1g.

Medidas de comprimento corporal

Foi utilizada uma régua milimetrada para mensuração da medida muriométrica durante o desmame, 30 e 60 dias de idade (SILVA et al., 2007).

Eixo Longitudinal do Corpo - O eixo longitudinal foi medido, contendo delicadamente o corpo do animal com os dedos de forma que o corpo fosse mantido sob os dedos anular e médio e a cauda sob o indicador, causando uma rápida imobilização. Dessa forma com ajuda de uma caneta, os pontos entre o focinho e a base da cauda foram marcados e a distância entre estes, efetuada com régua.

Índices de sobrepeso / obesidade

Com os dados do peso e do comprimento corporal, foi avaliado o índice de massa corporal (NOVELLI et al., 2007):

Índice de massa corporal - O índice de massa corporal é determinado pelo peso corporal (g) / comprimento ² (cm).

Avaliação de parâmetros bioquímicos do sangue

Retirada do sangue

Aos 118 dias de vida, após 12 horas de jejum e três horas do início do ciclo escuro, os animais foram anestesiados com uretana 12,5% e cloralose 0,5% (1 mL/100 g de peso corporal

do animal, *via i.p.*). O sangue foi coletado, após punção cardíaca em tubo de ensaio contendo heparina.

Avaliação de parâmetros bioquímicos do sangue

As amostras de sangue coletadas em tubos contendo EDTA (ácido etilenodiamino tetraacético) foram imediatamente centrifugadas a 1.500 rpm por 20 min a 4° C. O plasma foi congelado em nitrogênio líquido e estocado a -80° C.

A leptina no tecido adiposo subcutâneo e visceral foram avaliados a partir da técnica de *Western Blot*. Os tecidos foram homogeneizados em tampão de lise *ice-cold lysis buffer* (50mM-Hepes, pH 6,4, 1mM-MgCl₂, 10mM-EDTA, Triton X-100 1%, 1 mg/ml aprotinin, 1 mg/ml leupeptin, 1 mg/ml SBTI). Conteúdo de proteína total do sobrenadante foi determinada pelo método BCA[™] (Protein Assay Kit, Thermo Fisher Scientific Inc., Madison, WI, USA). A concentração de proteína foi determinada pelo método de Bradford (1976). Amostras de proteína total (10 µg) foram separadas por SDS-PAGE (12%) e transferidos para uma membrana de nitrocelulose (Hybond P, Amersham Pharmacia Biotech's Inc., Bucks, Londres, Reino Unido). As membranas foram bloqueadas durante 90 min com 5% de leite desnatado em TBS-T (20 mM de Tris, 0,5 M de NaCl, 0,1% de Tween 20). As membranas foram lavadas três vezes com a T-TBS e incubadas durante a noite com o anticorpo primário anti-leptina (rabbit monoclonal - 1:1000, Sigma Chemical Co., St Louis, MO, USA). Elas foram lavadas e incubadas durante 1 h com anticorpo secundário anti-rabbit (goat anti-rabbit conjugated with HRP 1:1000, Santa Cruz Biotechnology Inc., Santa Cruz, CA, USA). Depois da membrana ter sido lavada três vezes com T-TBS, a ligação do anticorpo foi visualizada utilizando 3,3-diaminobenzidina tetrahidrocloreto incubadas (10mg in 15 ml Tris buffer, 0.1M, pH 7.4). Resultados foram

normalizados com a actina. Análises de densitometria das bandas imunorreativas foram determinados pelo software de imagem PROPLUS (Infaimon, Barcelona, Espanha).

2ª ETAPA – 2º Artigo original

Animais e grupos experimentais

Foram utilizados ratos albinos da linhagem *Wistar* da colônia do biotério de criação do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco. Os animais foram mantidos em biotério com temperatura de $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$, ciclo claro-escuro invertido de 12/12h (claro: 17:00 hs às 05:00 hs e escuro: 05:00 hs às 17:00 hs) e livre acesso à alimentação (LABINA, Purina Brasil) e água. Após o período de lactação, 23 dias de vida, somente os filhotes machos foram utilizados no experimento e a alimentação continuou a dieta padrão do biotério.

Atividade Física Voluntária

Ao desmame, os grupos experimentais (n=10) foram formados de acordo com a realização de atividade física voluntária. O grupo controle, inativo (C, n=05 por gaiola, n=20 por número de animal) que permaneceram em gaiolas tipo padrão de biotério, quatro animais por gaiola (gaiolas de polipropileno - GP com dimensão de 43x43x20 cm). O grupo ativo (A, n=05 por gaiola, n=20 por animal) foi formado pelos animais transferidos para a “gaiola de atividade física voluntária” (GAFV) a fim de realizarem atividade física voluntária em cicloergômetro (tabela 5). As GAFVs são gaiolas de acrílico transparente com 60 cm de largura, 50 cm de altura e 80 cm de comprimento (figura 4). Estas gaiolas, que comportam 4 animais, contêm quatro cicloergômetros para que os ratos realizem atividade física voluntária. Para a identificação do animal no claro, cada um deles foi pintado com tinta atóxica em diferentes partes da cauda. Eles foram filmados por uma câmera de infra-vermelho localizada a frente da gaiola, conectada a um computador que registrava as informações sobre a movimentação dos animais na gaiola. No

escuro, essa identificação não pode ser utilizada. Os animais foram observados diariamente para avaliação quanto à realização de atividade física com utilização do cicloergômetro. Aos 90 dias de idade, todos os animais foram sacrificados para retirada dos tecidos (figura 5).

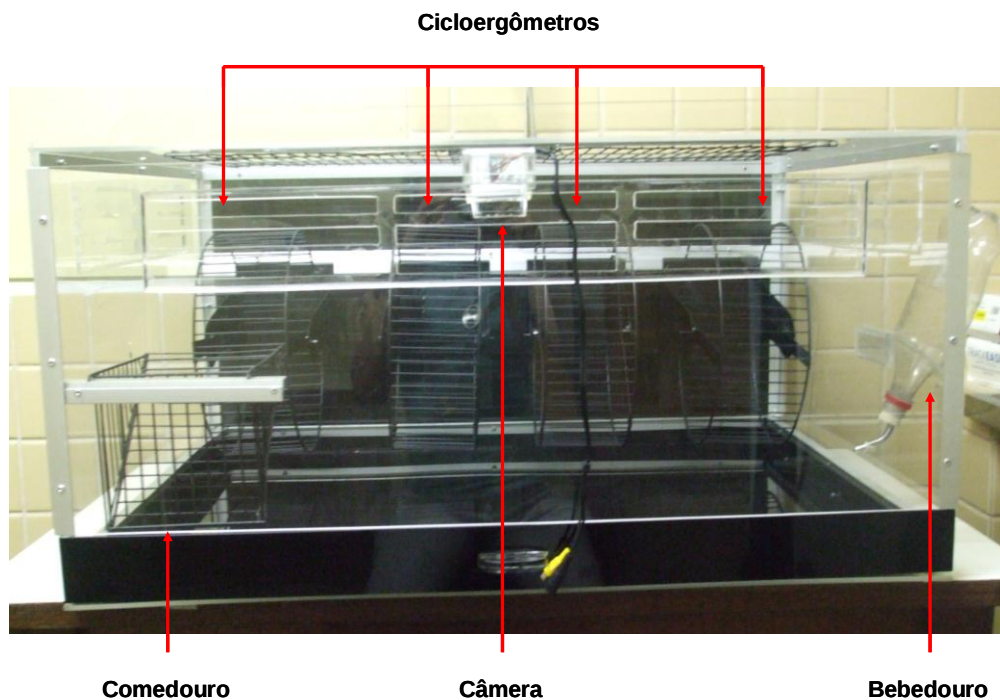


Figura 4: Gaiola de atividade física voluntária (GAFV).

Tabela 5: Formação dos grupos experimentais (n=10) de acordo com o tipo de gaiola em que permanece dos 23 aos 90 dias de vida.

Características Grupos	N por gaiola	N Por animal	Gaiola
23 aos 90 dias			
Controle (C)	05	20	GP*
Ativo (A)	05	20	GAFV*

* GP: Gaiola padrão de biotério, GAFV: Gaiola de atividade física voluntária.

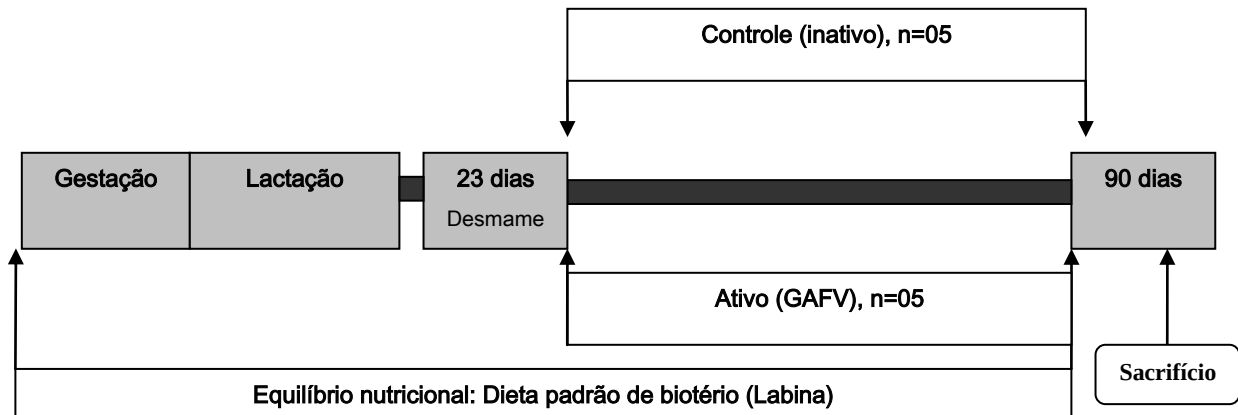


Figura 5: Desenho experimental representando a formação dos diferentes grupos, quanto à atividade física e o período em que foram sacrificados.

Avaliação da atividade física voluntária

Os animais ativos foram observados diariamente para avaliação da atividade física voluntária com o cicloergômetro através da filmagem obtida. Em cada hora do dia o número de ratos que estavam em atividade no cicloergômetro foi registrado em valor absoluto e percentual.

Avaliação do peso e do comprimento corporal

Medidas de peso corporal

Os filhotes foram pesados individualmente a cada sete dias durante todo o período de experimento (PIRES-DE-MÉLO et al, 2009).

Peso corporal - O peso corporal dos animais foi registrado através de balança eletrônica digital – Marte, modelo S-4000, com capacidade de 4kg e sensibilidade de 0,1g.

Ganho de peso corporal - O ganho de peso corporal (GPC) é o percentual de peso ganho em relação ao primeiro dia de vida. Foi calculado através da seguinte fórmula: ganho de peso corporal em percentual = $(\text{Peso de cada dia subsequente} \times 100 / \text{Peso ao nascer}) - 100$, ou seja, % GPC = $(P_x \times 100 / P_1) - 100$.

Medidas de comprimento corporal

Foi utilizado uma régua milimetrada para mensuração semanalmente da medida muriométrica (SILVA et al., 2007).

Eixo Longitudinal do Corpo - O eixo longitudinal foi medido, contendo delicadamente o corpo do animal com os dedos de forma que o corpo fosse mantido sob os dedos anular e médio e a cauda sob o indicador, causando uma rápida imobilização. Dessa forma com ajuda de uma caneta, os pontos entre o focinho e a base da cauda foram marcados e a distância entre estes, efetuada com régua.

Índices de sobrepeso / obesidade

Com os dados do peso e do comprimento corporal, foram avaliados os índices de sobrepeso e obesidade dos animais semanalmente, exceto a circunferência abdominal registrada aos 90 dias de vida (NOVELLI et al., 2007):

Índice de massa corporal - O índice de massa corporal é determinado pelo peso corporal (g) / comprimento ² (cm).

Circunferência torácica - A circunferência torácica é determinada pela circunferência medida imediatamente após as patas anteriores.

Circunferência abdominal - A circunferência abdominal é determinada é medida pela circunferência do ponto médio entre as patas anteriores e posteriores.

Avaliação do consumo alimentar

Os índices a seguir foram calculados segundo DEIRÓ, 1998.

Ingestão alimentar absoluta (IAA): corresponde a quantidade de ração ingerida em gramas pelos animais de uma mesma gaiola semanalmente. O valor é obtido através da fórmula: IAA =

QO – QR, onde, IAA é a ingestão alimentar absoluta (quantidade ingerida), QO é a quantidade oferecida e QR é a quantidade rejeitada.

Ingestão hídrica absoluta (IHA): corresponde à quantidade de água ingerida em mililitros pelos animais de uma mesma gaiola semanalmente. O valor é obtido através da fórmula: $IHA = QO - QR$, onde, IHA é a ingestão hídrica absoluta (quantidade ingerida), QO é a quantidade oferecida e QR é a quantidade rejeitada.

Avaliação de parâmetros bioquímicos do sangue

Retirada do sangue

Aos 90 dias de idade os animais foram sacrificados, após 12 horas de jejum. O sangue foi removido após decaptação por guilhotinha e coletado em tubos com EDTA.

Avaliação de parâmetros bioquímicos do sangue

As amostras de sangue coletadas em tubos contendo EDTA foram imediatamente centrifugadas a 1.500 rpm por 20 min a 4° C. O plasma foi congelado em nitrogênio líquido e estocado a -80° C. Para determinação do colesterol, triglicerídeos, proteína e glicose foi utilizado 200 µL do plasma para análise através do kit comercial Biosystem em espectrofotômetro BEL 1105 (Photonics, New Jersey, USA) (TOSTE *et al.*, 2006).

Considerações éticas

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFPE (Parte 1: protocolo nº 23076.000904/2009-01 e Parte 2: protocolo nº 23076.021764/2008-18), em anexo. Para o correto manuseio dos animais, os pesquisadores foram devidamente treinados e as normas de biossegurança e do biotério foram rigorosamente seguidas. A manipulação e os

cuidados com os animais seguiram o estatuto da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL) e Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

Análise estatística

A análise da atividade física voluntária foi descritiva considerando a porcentagem semanal dos animais que utilizaram o cicloergômetro em cada hora do dia. Fórmula: percentual semanal de animais que utilizaram o cicloergômetro durante um determinado horário do dia = $(\text{número total de animais que utilizaram o cicloergômetro na semana durante um determinado horário do dia} \times 100) / \text{número total de animais em gaiolas de atividade física voluntária}$. Os demais valores são expressos em média e erro padrão da média (EPM). Para comparação entre os grupos experimentais dos animais sob treinamento físico, dados paramétricos, foi aplicada a Análise de Variância (ANOVA two-way). Quando a ANOVA revelou existência de diferença, foi utilizado o Teste de comparações múltiplas Bofferroni. Para comparações entre os grupos considerando a análise em apenas um momento utilizou-se o teste t-student. O nível de significância foi mantido em 5% para todas as análises, utilizando o programa GraphPad Prism 4 para Windows.

RESULTADOS

ARTIGO 1

Hormone and Metabolic Research (A2)

Title: Effects of a moderate physical training on the leptin synthesis by adipose tissue of adult rats submitted to a perinatal low-protein diet

Short running title: Moderate physical training and leptin

Name of Authors:

Iracema Hermes Pires-de-Mélo ¹

Luana Moita¹

Flávia Karina Wanderley dos Reis ¹

Elaine de Oliveira ²

Patrícia Cristina Lisboa ²

Egberto Gaspar de Moura ²

Raul Manhães-de-Castro¹

Carol Góis Leandro ³

Affiliations of all authors

¹ Department of Nutrition, Federal University of Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil.

² PhD. Department of Physiological Science, Institute of Biology Roberto Alcantara Gomes, State University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil.

³ Ph.D. Department of Physical Education and Sports Science, CAV, Federal University of Pernambuco, Vitória de Santo Antão, Pernambuco, Brazil.

Mailing address:

Iracema Hermes Pires de Mélo Montenegro

Rua Prof Moraes Rego, 1235 – CEP: 50670-901 – Departamento de Nutrição - Cidade Universitária - Recife, PE – Brasil.

Telefone: (81) 21268463. Fax: (81) 21268473

E-mail: iracemamelo@hotmail.com

Abstract

Aim. To verify if moderate physical training affects leptin content in visceral and subcutaneous adipose tissue of adult rats subjected to a low protein diet during the perinatal period. **Methods.** Male Wistar rats were divided into two groups according to their mother's diet during gestation and lactation: control (17% casein, C, n=12) and low-protein (8% casein, LP, n=12). On postnatal day 60, half of each group was submitted to moderate physical training (8 wks, 5 d.wk⁻¹, 60 min.d⁻¹, at 70% of VO_{2max}, T) or not. After the physical training period, visceral and subcutaneous adipose tissues were removed. Leptin content was evaluated by western blotting. **Results.** Starting from the fifth week on, T pups showed a reduction in the body weight. Similarly, LP+T offspring showed a lower body weight starting from the sixth week on. Western blotting analysis showed that leptin content in the visceral tissue was higher in the LP rats ($p < 0.01$) and it was reversed in LP+T. no difference was found in the subcutaneous tissue. **Conclusions.** Moderate physical training acts as a positive environmental stimulus that reverts the effects of a perinatal low-protein diet on the leptin content in visceral adipose tissue.

Key-words: Perinatal undernutrition, physical exercise, programming, leptin, visceral adipose tissue

Introduction

In recent decades, findings from retrospective human epidemiological studies and experimental animal models have shown that nutritional experience during early periods of life (fetal and immediate postnatal) can contribute to the development of the metabolic syndrome via developmental plasticity [1]. The term “developmental plasticity” is used to explain that during early ontogeny, the developing organism passes throughout ‘critical windows’ of sensitivity or plasticity, during which environmental factors generate long-lasting phenotype adjustments [1-3]. The maternal low-protein diet model is one of the most extensively studied models of developmental plasticity [4]. A low-protein diet (8% casein) during gestation and lactation followed by a normal diet throughout the life-course is associated with growth restriction, slightly elevated systolic blood pressures, age-dependent loss of glucose tolerance, insulin resistance, hypertension and obesity [4, 5]. Insulin resistance and hyperinsulinemia have also been related to several dysfunctions of the adipose tissue, such as changes in levels of adiponectin and leptin [5].

Leptin is a hormone mainly produced by mature white adipocytes and it regulates body weight and the adipose tissue mass [5]. It acts mainly on the hypothalamus decreasing food intake and increasing energy expenditure, reduces the release of orexigenic neuropeptides and stimulates the increase of anorexigenic neuropeptides in the arcuate nucleus [5]. Maternal protein restriction (81g protein/kg-8% of energy) increased relative fat mass, and induced hyperglycemia, hypercholesterolemia, and hyperleptinemia in adult offspring (9 mo) [6]. In addition, maternal low protein diet during gestation and lactation permanently alters the gene expression of enzymes involved in lipogenesis in adipose tissue from adult rats and can be related to early onset of obesity [7].

Strategies for prevention of obesity have emphasized restriction of dietary energy intake, with increases in general physical activity or physical training [8]. Indeed, physical exercise is a

well-known inductor of positive organic adaptations, but its beneficial effects depends directly on the intensity/duration/type of effort [9]. The intensity of exercise is widely expressed as a percentage of an individual's maximal oxygen consumption (VO_{2max}) [10]. VO_{2max} is the maximum capacity of an organism to transport and utilize oxygen during incremental exercise [10]. Exercise is considered moderate when oxygen consumption is around 50-70% of VO_{2max} and it has been reported to lower body weight and body fat, blood glucose, lipogenesis and improved insulin signaling in skeletal muscle and adipose tissue [11]. In rats, moderate physical training was effective in preventing the development of leptin resistance [12]. Recently, we demonstrated that controlled moderate- to low-intensity physical training (treadmill, 5 d/week, 60 min/d, at 70% VO_{2max}) attenuated the effects of a perinatal low-protein diet (8% casein) in the immune response and proportion of fibre types in skeletal muscle [13, 14].

In order to test the hypothesis that physical training attenuates the effects of a perinatal low-protein diet on the leptin synthesis in adipose tissue, the aim of the present study was to verify the effects of a moderate physical training on the leptin content in visceral and subcutaneous adipose tissue of adult rats submitted to a low protein diet during gestation and lactation.

Materials and methods

The experimental protocol was approved by the Ethical Committee of the Biological Sciences Center (protocol number 23076.000904/2009-01), Federal University of Pernambuco, Brazil and followed the Guidelines for the Care and Use of Laboratory Animals [15].

Animals and Diet

Male Wistar rats (*Rattus norvegicus*) were obtained from the Department of Nutrition, Federal University of Pernambuco, Brazil. Rats were maintained at a room temperature of $23 \pm 1^\circ\text{C}$ and in a light–dark cycle (light 6:00 a.m. - 6:00 p.m.). Rats were kept in groups of six pups,

randomly distributed into two nutritional groups according to their mother's diet during gestation and lactation: a well-nourished group (control, C, n=12) fed by mothers (n= 6) receiving a 17% protein (casein) diet and a low-protein group (LP, n=12), fed by mothers (n= 6) receiving an 8% protein (casein) isocaloric diet *ad libitum*. During the suckling period, offspring were kept in litters of six pups. Offspring of low-protein fed mothers remained on an 8% low-protein diet and the control groups received a 17% casein diet. After weaning (on the 25th day of age), animals were kept in the collective cage and received animals' standard laboratory chow (Labina, Purina, São Paulo, Brazil) *ad libitum*. At the 63th day after birth, animals were divided into four groups according to physical training: control (C, n=6), undernourished (LP, n=6), control and submitted to training (T, n=6), and undernourished and submitted to training (LP+T, n=6). Trained rats run in a treadmill over a period of 8 weeks (5 days.wk⁻¹, 60 min.day⁻¹, at 70% VO_{2max}) [9].

Protocol of physical training

The protocol of physical training was performed according to Leandro et al [9]. Briefly, rats ran in a treadmill (EP-131®, Insight Equipments, SP, Brazil) during 8 weeks (5 days.wk⁻¹, 60 min.day⁻¹). The protocol was divided into four progressive stages in each session: (i) warm-up (5 minutes); (ii) intermediary (10 minutes); (iii) training (30 minutes), and (iv) cool-down (5 minutes) periods. The percentage of VO_{2max} during the sessions of training was kept around 65₄₇ 70%; the exercise was classified as aerobic with moderate intensity of effort. The non-trained group remained in their cages. Animals were not submitted to any kind of reinforcement during exercise.

Offspring body weight and body length

The body weight of pups was weekly recorded all through the experiment with a Marte Scale, AS-1000, approaching 0.01 g. The body length of pups was recorded on days 21 to 63 of life by measuring the external surfaces (nose-to-anus length) using a digital caliper (0.01 mm

accuracy). The body weight and body length were used to determine the body mass index (BMI, grams/length²) [16].

Western blotting

At 118 days of age, forty-eight hours after the last session of physical exercise, animals were anesthetized *v.ip.* with uretana (12.5 mL/100 g body weight) and cloralose (0.5 mL/100 g body weight). Fat tissues were homogenized on ice-cold lysis buffer (50mM-Hepes, pH 6.4, 1mM-MgCl₂, 10mM-EDTA, Triton X-100 1%, 1 mg/mL aprotinin, 1 mg/mL leupeptin, 1 mg/mL SBTI). Total protein content of the supernatants was determined by BCA[™] method (Protein Assay Kit, Thermo Fisher Scientific Inc., Madison, WI, USA). Samples with 10 µg total protein were separated by SDS-PAGE (12%) and transferred to a nitrocellulose membrane (Hybond P, Amersham Pharmacia Biotech's Inc., Bucks, London, UK). Membranes were blocked for 90 min with 5% non-fat dry milk in TBS-T (20 mM Tris, 0.5 M NaCl, 0.1% Tween 20). Membranes were washed three times with T-TBS and incubated overnight with primary antibody anti-leptin (rabbit monoclonal - 1:1000, Sigma Chemical Co., St Louis, MO, USA). They were washed and incubated for 1 h with secondary antibody anti-rabbit (goat anti-rabbit conjugated with HRP 1:1000, Santa Cruz Biotechnology Inc., Santa Cruz, CA, USA). After the membrane had been washed three times with T-TBS, antibody-binding was visualised using 3,3',4,4'-diaminobenzidine tetrahydrochloride (10mg in 15 ml Tris buffer, 0.1M, pH 7.4). Results were normalized with actin. Densitometry analyses of the immunoreactive bands were determined by Proplus image software (Infaimon, Barcelona, Spain) [17].

Statistical analysis

Results are presented as the mean ± the standard error of the mean. Comparisons between the control and the low-protein groups were performed using Student's *t*-test. For statistical analysis, intra-litter analyses were performed and found not to be significant. Data were analysed

by two-way repeated measure ANOVA, with the mother's diet (C, LP) and physical training (T, T+LP) as factors. Bonferroni's *post hoc* test was used. Significance was set at $P < 0.05$. Data analysis was performed using the statistical program Graphpad Prism 5[®] (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, USA).

Results

Pups' birth weights were lower in the LP pups than in the C pups. From weaning to 30th d, body weight, body length, and BMI were lower in LP pups than that in control pups (Table 1). At 60 d old, LP pups showed a lower body weight but normalized the body length and BMI (Table 1).

Table 1 – Body weight, body length (nose-to-anus length), and body mass index (BMI, grams/length²) of pups from mothers fed either an LP diet (casein 8%) or a normoproteic diet (casein 17%) during gestation and lactation. Data are presented as means + S.E.M.

		n	Body weight		Body length		BMI	
			Mean	S.E.M.	Mean	S.E.M.	Mean	S.E.M.
Birth weight	C	12	6.4	0.1	-	-	-	-
	LP	12	5.0 ^a	0.1	-	-	-	-
Weaning	C	12	51.3	1.0	12.6	0.06	0.3	0.003
	LP	12	29.2 ^a	1.1	11.0 ^a	0.01	0.25 ^a	0.004
30 th d	C	12	112.7	3.5	16.1	0.02	0.43	0.003
	LP	12	80.9 ^a	4.0	14.0 ^a	0.02	0.39 ^a	0.003
60 th d	C	12	239.1	8.5	22.1	0.03	0.48	0.002
	LP	12	209.3 ^a	7.0	21.5	0.1	0.45	0.002

^a $p < 0.05$ by *t-test* student.

At 60 d old, half of the number of pups in each group was submitted to a protocol of moderate physical training for 8 weeks. All of the groups showed an increase in body weight gain throughout the weeks, and LP pups did not change when compared with C pups (Fig. 1). During the protocol with moderate physical training, starting from the fifth week on, T pups showed a

reduction in the body weight. Similarly, LP+T pups showed a lower body weight starting from the sixth week on (Fig. 1).

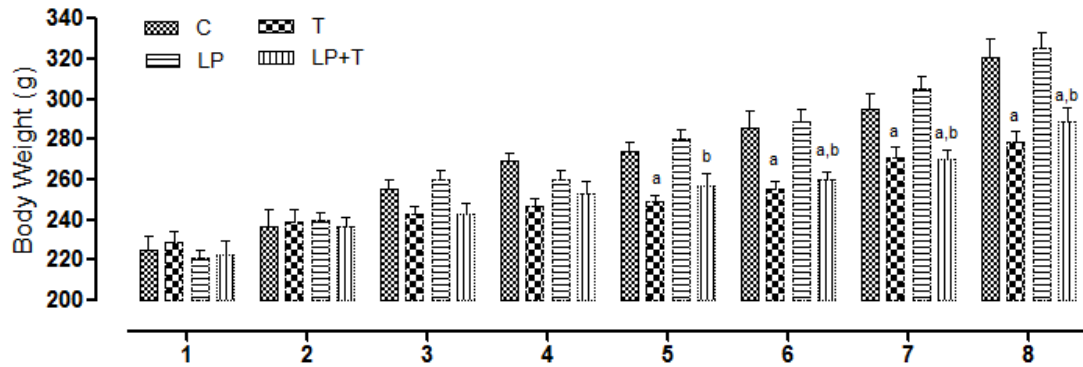


Figure 1. Body weight (g) during the weeks of physical training of the control rats (C, maternal 17% casein diet), perinatal low-protein diet rats (LP, maternal 8% casein diet), trained rats (T, maternal 17% casein diet) and perinatal low-protein diet and trained rats (LP + T, maternal 8% casein diet) [n = 6 for each group]. ^a $P < 0.05$ vs. C, and ^b $P < 0.05$ vs. LP by using two-way ANOVA and Bonferroni's *post hoc* test. Values are expressed as mean $\pm$ SEM.

Western blotting analysis showed that leptin content in the visceral tissue (2a) was higher in the LP rats ($p < 0.01$) and it was normalized in LP+T rats but no difference was found in the subcutaneous tissue among the groups (Fig. 2b).

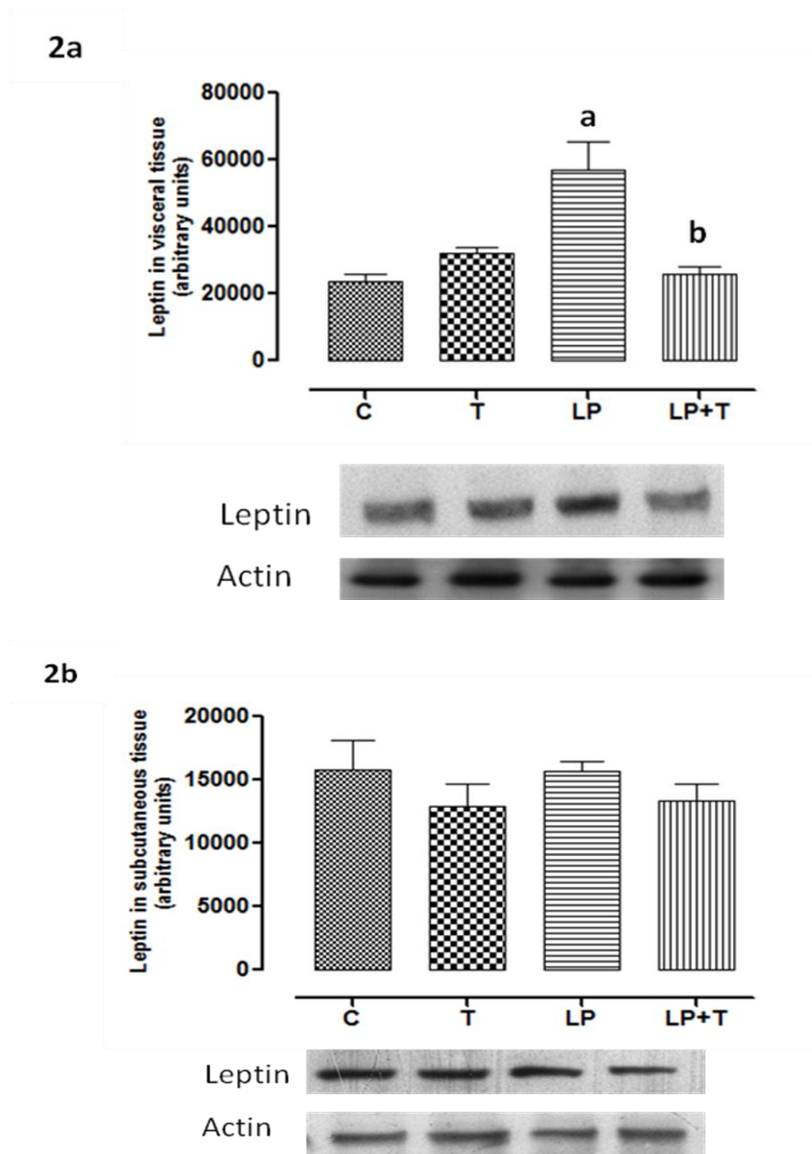


Figure 2. Leptin content in the visceral adipose tissue (a) and subcutaneous adipose tissue (b) of the control rats (C, maternal 17% casein diet), perinatal low-protein diet rats (LP, maternal 8% casein diet), trained rats (T, maternal 17% casein diet) and perinatal low-protein diet and trained rats (LP + T, maternal 8% casein diet) at 118 days-old ($n = 6$ for each group). Actin was used as internal control. Data are representative of three independent experiments of Western blot. ^a $P < 0.05$ vs. C, and ^b $P < 0.05$ vs. LP by using two-way ANOVA and Bonferroni's *post hoc* test. Values are expressed as mean $\pm$ SEM.

Discussion

Maternal protein restriction is positively correlated with low birth weight, an impaired offspring growth rate and a loss of lean mass during development [18]. Indeed, pups from LP

mothers showed a reduced birth weight and a reduced body weight until 60 d old. Our results are in accordance with previous studies [4, 13, 14]. In trained animals, body weight was lower in comparison with the pair's non-trained matching counterpart. It is well established that regular moderate physical exercise increases the utilisation of fatty acids as fuel by skeletal muscles [19]. In addition, moderate physical training (50 - 70% $\text{VO}_{2\text{max}}$) results in negative energy balance and potentiates the thermic effects of food in lean subjects and this response may be enhanced in the obese [9]. In humans, male adolescents showed an enhanced lean muscle mass and prevention of body weight gain in response to aerobic exercise (12 weeks, 65% to 85% maximum heart rate) [20]. In the present study, LP + T animals showed a reduced gain of body weight during the weeks of moderate physical training. Our findings demonstrated that moderate physical training is a positive environmental stimulus and can be a possible strategy to attenuate long-term effects, to reduce the maternal environmental insult associated with obesity.

Leptin is a regulator of energy homeostasis that also affects placental and fetal development [5]. In mice, maternal food restriction results in decreased serum leptin levels, and the early leptin depletion may be one mechanism by which food restriction imprints the animal to develop higher fat mass and food intake at adulthood [21, 22]. In the present study, maternal low-protein diet during gestation and lactation resulted in unchanged leptin content in subcutaneous adipose tissue but higher leptin content in visceral adipose tissue at adulthood. The fact that leptin is produced differently in the two types of adipose tissue, confirms previous data that dissociate the adipose mass from leptin serum concentration. In fact, other models of developmental plasticity present higher leptin content in the visceral adipocyte, such as neonatal leptin treatment and nicotine exposure during lactation or lower leptin content in the visceral adipocyte in the model of postnatal early overnutrition [5, 23, 24]. The relative lower leptin production seems to indicate a dysfunctional adipocyte because it is expected a higher leptin

production in larger adipose cells. Indeed, it was demonstrated that leptin production is inversely correlated with the severity of metabolic syndrome in humans [25]. Perhaps the adipose tissue becomes exhausted with the obesity advance, and releases less leptin, and this alteration parallels the pancreatic beta-cells failure. On the other side, in the other two previous models and in the LP model here reported, there are a compensatory leptin overproduction in the visceral adipose tissue that can be important to maintain some of the leptin functions. The effects of a perinatal low-protein diet on the leptin content in visceral adipose tissue were attenuated in trained rats. The moderate exercise training normalizing other metabolic dysfunctions also normalize this compensatory leptin increase.

It has been well established that moderate physical training accompanies changes in leptin and/or adiponectin concentrations and decreases the visceral body fat content [9, 26, 27]. Miyazaki et al [27] verified that daily training (treadmill, 6-7 weeks, 90 min/d at 30 m/min) induced a reduction in the size of adipocytes leptin mRNA expression, leptin secretion in epididymal and inguinal adipose tissue. Conversely, in female judo athletes, plasma leptin increase in 5 d with no-training [28]. Eight weeks of voluntary wheel running induced a lower lipogenesis and higher lipolysis in adipose tissue of adult rats [29]. Fiebig et al [30] verified that moderate physical training (2 h d^{-1} , 5 d wk^{-1} , during 10 wks) reduced fatty acid synthase activity, the rate-limiting enzyme for hepatic lipogenesis, and the accumulation of visceral body fat in adult rats. Taken together, it can be suggested that developmental plasticity can be modulated by positive environmental stimuli in adult life, such as moderate physical training.

The present study showed for the first time that moderate physical training attenuates the effects of a low-protein diet on the leptin content in visceral adipose tissue. Additional experiments on studying the underlying mechanisms that include activation of PPARgamma, AMP-activated protein kinase, and mitochondrial biogenesis would be worthwhile to perform.

References

1. *Gluckman, P.D. and M.A. Hanson*, Developmental plasticity and human disease: research directions. *J Intern Med*, 2007. **261**(5): p. 461-71.
2. *Lucas, A.*, Programming by early nutrition in man. *Ciba Found Symp*, 1991. **156**: p. 38-50; discussion 50-5.
3. *Barker, D.J.*, The origins of the developmental origins theory. *J Intern Med*, 2007. **261**(5): p. 412-7.
4. *Ozanne, S.E. and C.N. Hales*, Lifespan: catch-up growth and obesity in male mice. *Nature*, 2004. **427**(6973): p. 411-2.
5. *Trevenzoli, I.H., A.L. Rodrigues, E. Oliveira, A.A. Thole, L. Carvalho, M.S. Figueiredo, F.P. Toste, J.F. Neto, M.C. Passos, P.C. Lisboa, and E.G. Moura*, Leptin treatment during lactation programs leptin synthesis, intermediate metabolism, and liver microsteatosis in adult rats. *Horm Metab Res*, 2010. **42**(7): p. 483-90.
6. *Bol, V.V., A.I. Delattre, B. Reusens, M. Raes, and C. Remacle*, Forced catch-up growth after fetal protein restriction alters the adipose tissue gene expression program leading to obesity in adult mice. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2009. **297**(2): p. R291-9.
7. *Guan, H., E. Arany, J.P. van Beek, A. Chamson-Reig, S. Thyssen, D.J. Hill, and K. Yang*, Adipose tissue gene expression profiling reveals distinct molecular pathways that define visceral adiposity in offspring of maternal protein-restricted rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2005. **288**(4): p. E663-73.
8. *Gutin, B.*, Diet vs exercise for the prevention of pediatric obesity: the role of exercise. *Int J Obes (Lond)*, 2010.
9. *Leandro, C.G., A.C. Levada, S.M. Hirabara, R. Manhaes-de-Castro, C.B. De-Castro, R. Curi, and T.C. Pithon-Curi*, A program of moderate physical training for Wistar rats based on maximal oxygen consumption. *J Strength Cond Res*, 2007. **21**(3): p. 751-6.
10. *Seeherman, H.J., C.R. Taylor, G.M. Maloiy, and R.B. Armstrong*, Design of the mammalian respiratory system. II. Measuring maximum aerobic capacity. *Respir Physiol*, 1981. **44**(1): p. 11-23.
11. *Tjonna, A.E., S.J. Lee, O. Rognmo, T.O. Stolen, A. Bye, P.M. Haram, J.P. Loennechen, Q.Y. Al-Share, E. Skogvoll, S.A. Slordahl, O.J. Kemi, S.M. Najjar, and U. Wisloff*, Aerobic interval training versus continuous moderate exercise as a treatment for the metabolic syndrome: a pilot study. *Circulation*, 2008. **118**(4): p. 346-54.
12. *Steinberg, G.R., A.C. Smith, S. Wormald, P. Malenfant, C. Collier, and D.J. Dyck*, Endurance training partially reverses dietary-induced leptin resistance in rodent skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2004. **286**(1): p. E57-63.
13. *Leandro, C.G., W. da Silva Ribeiro, J.A. Dos Santos, A. Bento-Santos, C.H. Lima-Coelho, F. Falcao-Tebas, C.J. Lagranha, S. Lopes-de-Souza, R. Manhaes-de-Castro, and A.E. Toscano*, Moderate physical training attenuates muscle-specific effects on fibre type composition in adult rats submitted to a perinatal maternal low-protein diet. *Eur J Nutr*, 2011.
14. *Moita, L., M.F. Lustosa, A.T. Tobias Silva, I.H. Pires-de-Melo, R.J. Vieira de Melo, R.M. de Castro, N.T. de Pontes Filho, J.C. Ferraz, and C.G. Leandro*, Moderate Physical Training Attenuates the Effects of Perinatal Undernutrition on the Morphometry of the Splenic Lymphoid Follicles in Endotoxemic Adult Rats. *Neuroimmunomodulation*, 2011. **18**(2): p. 103-110.

15. Bayne, C.G., American Academy of Home Care Physicians. Are you ready for this? *Home Care Provid*, 1996. **1**(3): p. 162-3.
16. Pires-de-Melo, I.H., F. Wanderley Dos Reis, L.S. Luz, S.T. Paz, H.J. Silva, S.L. Souza, and C.G. Leandro, Short- and long-term effects of a neonatal low-protein diet in rats on the morphology of the larynx. *Nutrition*, 2009. **25**(7-8): p. 855-60.
17. Toste, F.P., E.G. de Moura, P.C. Lisboa, A.T. Fagundes, E. de Oliveira, and M.C. Passos, Neonatal leptin treatment programmes leptin hypothalamic resistance and intermediary metabolic parameters in adult rats. *Br J Nutr*, 2006. **95**(4): p. 830-7.
18. Mallinson, J.E., D.V. Sculley, J. Craigon, R. Plant, S.C. Langley-Evans, and J.M. Brameld, Fetal exposure to a maternal low-protein diet during mid-gestation results in muscle-specific effects on fibre type composition in young rats. *Br J Nutr*, 2007. **98**(2): p. 292-9.
19. Hirabara, S.M., L.R. Silveira, F.R. Abdulkader, L.C. Alberici, J. Procopio, C.R. Carvalho, T.C. Pithon-Curi, and R. Curi, Role of fatty acids in the transition from anaerobic to aerobic metabolism in skeletal muscle during exercise. *Cell Biochem Funct*, 2006. **24**(6): p. 475-81.
20. Wong, P.C., M.Y. Chia, I.Y. Tsou, G.K. Wansaicheong, B. Tan, J.C. Wang, J. Tan, C.G. Kim, G. Boh, and D. Lim, Effects of a 12-week exercise training programme on aerobic fitness, body composition, blood lipids and C-reactive protein in adolescents with obesity. *Ann Acad Med Singapore*, 2008. **37**(4): p. 286-93.
21. Schlitt, J.M. and L.C. Schulz, The source of leptin, but not leptin depletion in response to food restriction, changes during early pregnancy in mice. *Endocrine*, 2011.
22. Teixeira, C., M. Passos, C. Ramos, S. Dutra, and E. Moura, Leptin serum concentration, food intake and body weight in rats whose mothers were exposed to malnutrition during lactation. *J Nutr Biochem*, 2002. **13**(8): p. 493.
23. Pinheiro, C.R., E. Oliveira, I.H. Trevenzoli, A.C. Manhaes, A.P. Santos-Silva, V. Younes-Rapozo, S. Claudio-Neto, A.C. Santana, C.C. Nascimento-Saba, E.G. Moura, and P.C. Lisboa, Developmental plasticity in adrenal function and leptin production primed by nicotine exposure during lactation: gender differences in rats. *Horm Metab Res*, 2011. **43**(10): p. 693-701.
24. Conceicao, E.P., I.H. Trevenzoli, E. Oliveira, J.G. Franco, A.S. Carlos, C.C. Nascimento-Saba, E.G. Moura, and P.C. Lisboa, Higher white adipocyte area and lower leptin production in adult rats overfed during lactation. *Horm Metab Res*, 2011. **43**(7): p. 513-6.
25. Paz-Filho, G.J., A. Volaco, H.L. Suplicy, R.B. Radominski, and C.L. Boguszewski, Decrease in leptin production by the adipose tissue in obesity associated with severe metabolic syndrome. *Arq Bras Endocrinol Metabol*, 2009. **53**(9): p. 1088-95.
26. Zoth, N., C. Weigt, U. Laudenbach-Leschowski, and P. Diel, Physical activity and estrogen treatment reduce visceral body fat and serum levels of leptin in an additive manner in a diet induced animal model of obesity. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2010. **122**(1-3): p. 100-5.
27. Miyazaki, S., T. Izawa, J.E. Ogasawara, T. Sakurai, S. Nomura, T. Kizaki, H. Ohno, and T. Komabayashi, Effect of exercise training on adipocyte-size-dependent expression of leptin and adiponectin. *Life Sci*, 2010. **86**(17-18): p. 691-8.
28. Koury, J.C., J. de Oliveira Kde, G.C. Lopes, A.V. de Oliveira, Jr., E.S. Portella, E.G. de Moura, and C.M. Donangelo, Plasma zinc, copper, leptin, and body composition are associated in elite female judo athletes. *Biol Trace Elem Res*, 2007. **115**(1): p. 23-30.

29. *Petridou, A., S. Tsalouhidou, G. Tsalis, T. Schulz, H. Michna, and V. Mougios*, Long-term exercise increases the DNA binding activity of peroxisome proliferator-activated receptor gamma in rat adipose tissue. *Metabolism*, 2007. **56**(8): p. 1029-36.
30. *Fiebig, R.G., J.M. Hollander, D. Ney, R. Boileau, E. Jeffery, and L.L. Ji*, Training down-regulates fatty acid synthase and body fat in obese Zucker rats. *Med Sci Sports Exerc*, 2002. **34**(7): p. 1106-14.

ARTIGO 2

Revista Brasileira de Medicina do Esporte (B4)

Título: Adaptações fenotípicas evidenciadas em ratos Wistar sob atividade física voluntária.

Nome dos autores:

Iracema Hermes Pires-de-Mélo ¹

Adriano Bento dos Santos¹

Flávia Karina Wanderley dos Reis ¹

Carol Góis Leandro ²

Instituições de origem

¹ Departamento de Nutrição, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil.

² Ph.D. Departamento de Educação Física e Ciências do Esporte, CAV, Universidade Federal de Pernambuco, Vitória de Santo Antão, Pernambuco, Brasil.

Endereço para correspondência:

Iracema Hermes Pires de Mélo Montenegro

Rua Prof Moraes Rego, 1235 – CEP: 50670-901 – Departamento de Nutrição - Cidade Universitária - Recife, PE – Brasil.

Telefone: (81) 21268463. Fax: (81) 21268473

E-mail: iracemamelo@hotmail.com

Resumo

Introdução: A atividade física regular está associada à diminuição do risco de desenvolver obesidade e doenças relacionadas. Nos protocolos de atividade física voluntária para roedores existentes, os animais permanecem isolados durante o experimento atrapalhando seu convívio social e gerando estresse. *Objetivo:* Avaliar o nível de atividade física voluntária para ratos Wistar respeitando seu convívio social. *Métodos:* Ratos Wistar (23 dias de idade) foram divididos em dois grupos: controle (C, n = 05 gaiolas, 20 animais), ativos (A, n = 05, 20 animais). Os animais foram mantidos em ciclo claro-escuro invertido e avaliados semanalmente. O grupo ativo, dos 23 aos 90 dias de idade, realizou atividade física voluntária utilizando o cicloergômetro. O grupo controle permanecia em gaiola padrão de biotério. Medidas de peso e comprimento, consumo alimentar e hídrico foram registrados durante todo o experimento. Aos 90 dias de idade, as medidas da circunferência torácica e abdominal foram realizadas e em seguida os animais foram sacrificados. O sangue foi removido para a análise bioquímica de glicose, colesterol, triglicerídeos e proteína total. *Resultados:* Quanto a atividade física voluntária, os animais realizaram atividade durante o período escuro apresentando dois períodos com um maior número de animais no cicloergômetro. O primeiro momento entre as 06:00 e 09:00h e o segundo, menor que o anterior, entre as 15:00 e 16:00h. Os animais ativos mostraram maior peso corporal que o controle a partir dos 63 dias de idade. O percentual de ganho de peso foi maior no grupo ativo a partir dos 70 dias de idade. A partir dos 42 dias de idade, o consumo alimentar foi maior no grupo ativo a partir dos 42 dias de vida. A bioquímica sérica avaliada indicou menor glicemia nos ratos ativos. *Conclusão:* Adaptações fenotípicas à atividade física (peso corporal, circunferência torácica e abdominal e glicemia) podem ser evidenciadas.

Palavras-chave: Atividade física voluntária, parâmetros somáticos, consumo alimentar e hídrico.

Abstract

Introduction: Regular physical activity is associated with decreased risk for obesity and related diseases. In the voluntary exercise protocols exist for rodents, the animals remained isolated during the experiment disturbing their social and generating stress. *Objective:* Evaluate the level of voluntary physical activity for Wistar rats. *Methods:* Wistar rats (23 days old) were divided into two groups: control (C, n = 05 cages, 20 animals), active (A, n = 05, 20 animals). The animals were kept under reversed light-dark cycle and evaluated weekly. The active group, from the 23rd to the 90th day of age, performed voluntarily physical activity using the cycle ergometer. The control group remained in standard vivarium cage. Measurements of weight and length, feed and hydric intake were recorded throughout the experiment. At 90 days of age, the extent of the thoracic and abdominal circumference were performed and then the animals were sacrificed. Blood was removed for biochemical analysis of glucose, cholesterol, triglycerides and total protein. *Results:* As for the voluntary physical activity, the animals underwent activity during the dark period featuring two periods with a greater number of animals in the cycle ergometer. The first time between 06:00 and 09:00 h and the second, lesser than the previous one, between 15:00 and 16:00 h. The active animals showed higher body weight than the control from as from 63 days old. The percentage of weight gain was higher in the active group at 70 days old. Food consumption was higher in the active group from 42 days of life. The serum biochemistry showed lower blood glucose measured in active rats. *Conclusion:* Phenotypic adaptations to physical activity (body weight, chest and abdominal circumference and blood glucose) can be evidenced.

Keywords: Physical activity, somatic parameters, food and water consumption

Introdução

O termo atividade física refere-se a qualquer movimento do músculo esquelético que requeira gasto energético acima da taxa metabólica basal [1]. Um indivíduo pode ser classificado como ativo quando o nível de atividade física representa uma despesa igual ou superior a 1.500 Kcal/semana acima do metabolismo basal. Atividades físicas incluem caminhada, tarefas domésticas e outras ocupações [1]. O nível de atividade física diária em humanos pode ser avaliado indiretamente através de questionários e cálculo da taxa de gasto metabólico [2]. Ou avaliada por métodos objetivos com o uso de pedômetros e acelerômetros que quantificam o gasto energético associado com as atividades diárias [3]. A atividade física regular está associada a diminuição do risco de desenvolver obesidade e doenças relacionadas [4].

Evidências dos benefícios da atividade física para a saúde pode ser observado em estudos em humanos e animais [5]. Indivíduos ativos (determinado pelo nível de atividade da vida diária) apresentaram redução das dobras de adiposidade subcutâneas abdominal e de 12 a 14% no risco de desenvolver doenças cardiovasculares [6, 7]. Adolescentes que realizam atividade física possuem 33% menos de chance de desenvolver a síndrome metabólica [8]. É bem estabelecido que a atividade física atenua as dislipidemias, reduzindo os triglicerídeos séricos e aumentando o colesterol HDL [9-12]. Houve também um aumento da expressão de receptores de insulina no tecido adiposo e muscular [10-12]. Em ratos, a atividade física voluntária (corrida em cicloergômetro por 5 semanas) diminuiu o percentual de gordura na região epididimal [5].

Modelos experimentais de exercício físico em roedores podem ser por exercício/treinamento físico forçado ou atividade física voluntária. Os modelos de exercício/treinamento físico forçado (natação ou corrida em esteira) são vantajosos por padronizar distâncias, tempo e velocidades. Porém, induzem a condições estressantes e não fisiológicas visto que os animais por vezes realizam o exercício para evitar o afogamento

(natação) ou o choque (corrida em esteira) e, por vezes, em horários inadequados (diurno) [13]. No entanto, a atividade física voluntária, apesar de ser de difícil controle, é realizada pelos animais espontaneamente, em ambientes não estressantes e respeitando seu ciclo de sono/vigília [13].

Existem protocolos para atividade física voluntária em ratos que envolvem a corrida em cicloergômetro [14]. Porém, os animais permanecem isolados durante o experimento atrapalhando seu convívio social. Sabe-se que animais que vivem em isolamento apresentam um nível de estresse que perturba o ritmo circadiano de ratos, podendo prejudicar a atividade física [15]. Considerando os benefícios da atividade física e a importância da relação social entre os animais, desenvolveu-se uma gaiola para atividade física voluntária para ratos avaliando o comportamento dos animais diante da atividade física voluntária, o peso e comprimento corporal, circunferência torácica e abdominal, consumo alimentar e hídrico, concentrações séricas de colesterol, triglicerídeos, proteína total e glicose.

Métodos

A pesquisa experimental foi aprovada pelo Comitê de Ética para pesquisa em animais do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (Brasil) e as diretrizes de cuidados e uso de animais em laboratório foram seguidas.

Animais e dieta

40 ratos Wistar (*Rattus norvegicus*), aos 23 dias de idade foram obtidos do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco, Brasil. Os animais foram mantidos a temperatura ambiente ($23 \pm 1^\circ\text{C}$), ciclo claro-escuro invertido (luz 06:00h às 18:00h), com livre acesso a água e ração (56,81% de carboidratos, 23,27% de proteína, 4,24% de lipídeos e 358,48 Kcal; Labina, Purina, São Paulo, Brasil). Foram formados dois grupos experimentais:

controle (C, n = 05 gaiolas, 20 ratos) e ativos (A, n = 05 gaiolas, 20 ratos). Os animais controle permaneceram em gaiolas do tipo padrão de biotério (gaiolas de polipropileno com dimensões de 43x43x20 cm). O grupo ativo permaneceu em gaiolas de atividade física voluntária.

Protocolo de atividade física voluntária

Os animais ativos foram colocados em gaiolas de atividade física voluntária (GAFV) de acrílico transparente com 60 cm de largura, 50 cm de altura e 80 cm de comprimento, contendo quatro cicloergômetros em cada gaiola. Os ratos foram filmados por uma câmera de infravermelho localizada na frente da gaiola e conectado a um computador que registra as informações sobre a movimentação dos animais na gaiola. Os ratos foram observados diariamente para avaliação da atividade física voluntária com o cicloergômetro através da filmagem obtida. Em cada hora do dia o número de ratos que estavam em atividade no cicloergômetro foi registrado.

Peso, comprimento corporal, cintura torácica e abdominal

O peso corporal dos animais foi registrado semanalmente durante todo o experimento em balança Marte Scale, AS-1000, acuraria de 0,01g. Do peso corporal foram calculados o percentual de ganho de peso e a taxa de crescimento. Percentual de ganho de peso = $[\text{peso corporal (g)} \times 100 / \text{peso no primeiro dia de vida (g)}] - 100$. A taxa de crescimento é o número de gramas ganhas por dia: Taxa de crescimento (g) = peso do dia anterior – peso de cada dia subsequente. O comprimento corporal foi mensurado do nariz ao anus, utilizando uma régua milimetrada. O peso e comprimento corporal foram usadas para determinar o índice de massa corporal $[\text{IMC} = \text{peso (g)} / \text{comprimento}^2 (\text{cm}^2)]$ [16]. A circunferência torácica e abdominal foi determinada aos 90 dias de idade com uso de uma fita métrica [17]. A primeira consiste na circunferência após as patas anteriores. A segunda consiste na circunferência do ponto médio entre as patas anteriores e posteriores.

Consumo alimentar e hídrico

O consumo alimentar foi avaliado semanalmente de acordo com a seguinte fórmula:

Ingestão absoluta de ração (IAR) = quantidade ofertada – a quantidade rejeitada (g).

O consumo hídrico foi avaliado semanalmente de acordo com a seguinte fórmula:

Ingestão absoluta de água (IAA) = quantidade ofertada – a quantidade rejeitada (mL).

Preparação do sangue

Aos 90 dias de idade os animais foram sacrificados, após 12 horas de jejum. O sangue foi removido após decaptação por guilhotinha e coletado em tubos com EDTA. As amostras do tecido foram centrifugadas para obtenção do soro, armazenados individualmente em ependorf mantidos em freezer a – 80°C até a análise.

Bioquímica sérica

Os índices séricos de glicose, colesterol, triglicerídeos e proteínas foram analisados utilizando kits comerciais Biosystem em espectrofotômetro BEL 1105 (Photonics, New Jersey, USA) [18].

Análise estatística

A análise da atividade física voluntária foi descritiva considerando a porcentagem semanal dos animais que utilizaram o cicloergômetro em cada hora do dia. Fórmula: percentual semanal de animais que utilizaram o cicloergômetro durante um determinado horário do dia = (número total de animais que utilizaram o cicloergômetro na semana durante um determinado horário do dia x 100) / número total de animais em gaiolas de atividade física voluntária. Os demais resultados são apresentados como média e erro padrão da média, com significância de 0,05. Para comparações entre os grupos considerando a análise em apenas um momento utilizou-se o teste t-student. Comparações entre os grupos, considerando a análise em vários momentos da

vida, foram realizadas utilizando ANOVA – two-way. A análise de variância foi seguida pelo pós-teste de Bonferroni.

Resultados

Comportamento dos ratos diante da atividade física voluntária

Os ratos realizaram atividade física voluntária dos 23 aos 90 dias de idade, totalizando 10 semanas de atividade. A primeira semana foi característica do processo de adaptação ao ciclo claro-escuro e à atividade física voluntária. No período da 6^a a 10^a semana de atividade, observou-se um maior percentual de ratos em atividade física voluntária que nas cinco primeiras semanas. Pode ser observado maior percentual de animais realizando atividade física no ciclo escuro (06:00 às 18:00h), apesar de mostrar alguma atividade no ciclo claro (18:00 às 06:00h). Nas semanas seguintes (segunda à décima semana) os animais estavam adaptados, observando quase ausência de atividade física no ciclo claro. Alguns animais iniciavam a atividade física uma hora antes de iniciar o ciclo escuro (05:00h). Um maior percentual de animais ativos realizava atividade nas primeiras horas do ciclo escuro (entre 06:00h e 09:00h) caracterizando um primeiro pico de atividade. Da primeira a quinta semana de atividade, a partir das 10:00h houve uma diminuição na frequência de atividade física (entre 10:00 e 14:00h). Entre 15:00 e 16:00h, há um aumento do percentual de animais realizando atividade física, caracterizando o segundo pico de atividade, porém menor do que o primeiro. O segundo pico de atividade é ausente da sexta a décima semana de atividade, quando se observa uma diminuição contínua da frequência de atividade após o primeiro pico. Diminuição acentuada no percentual de animais em atividade física pode ser notada quando se inicia o ciclo claro, apesar de observar a atividade de alguns animais até duas horas após o início desse ciclo (entre 18:00 e 20:00h). Na sequência (21:00 e 04:00h) houve ausência de atividade física voluntária (figuras 1).

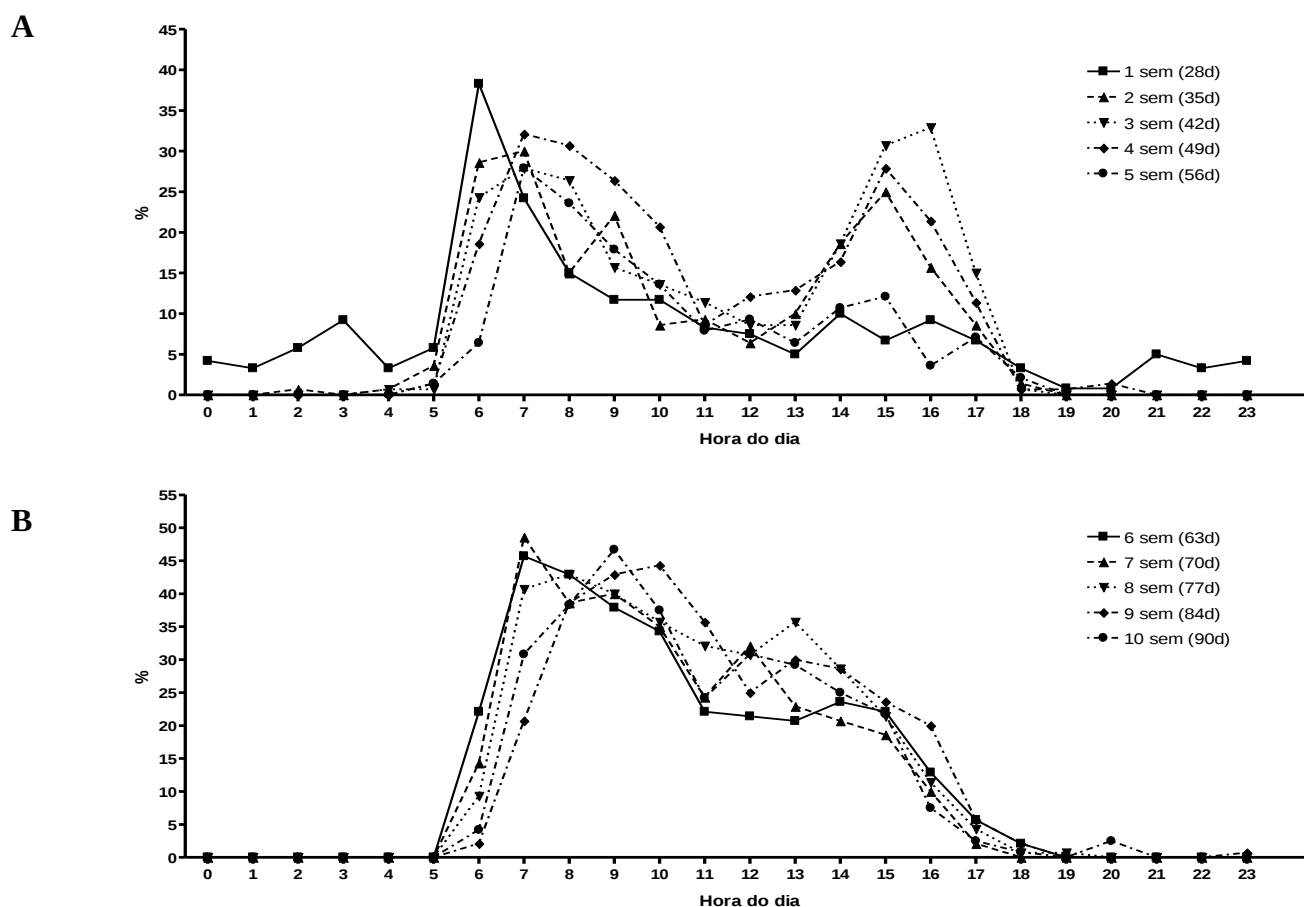


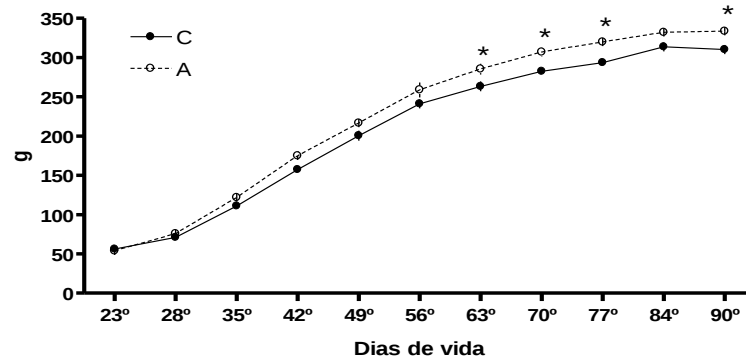
Figura 1. Percentual de animais ativos realizando atividade física voluntária, por semana, de acordo com a hora do dia. **A** – primeira a quinta semana em realização de atividade física voluntária. **B** - sexta a décima semana de atividade física voluntária.

Efeitos da atividade física voluntária sobre peso e comprimento corporal, cintura torácica e abdominal

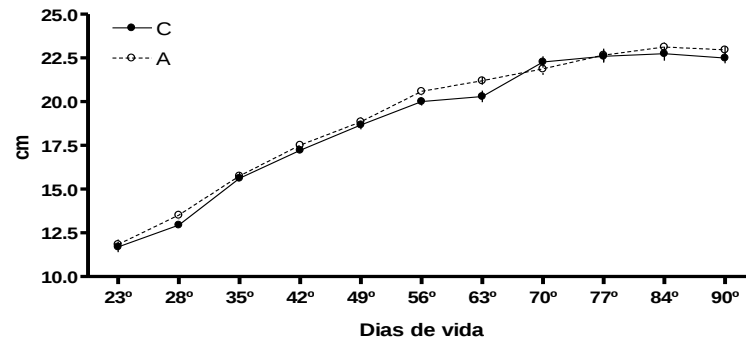
Ao iniciar a atividade física voluntária (23 dias de idade), o peso corporal dos grupos foi semelhante. Em ambos os grupos o peso corporal aumentou com a idade, no entanto, o grupo ativo apresentou maior peso a partir do 63º dia de idade. O percentual de ganho de peso aumentou com a idade em ambos os grupos, no entanto, desde o 70º dia o grupo ativo apresentou maior percentual de ganho de peso que o grupo controle. O índice de massa corporal foi

semelhante em todas as idades, exceto aos 70 dias de idade (figura 2). Aos 90 dias de idade o grupo ativo apresentou maior circunferência torácica e abdominal que o grupo controle (figura 3).

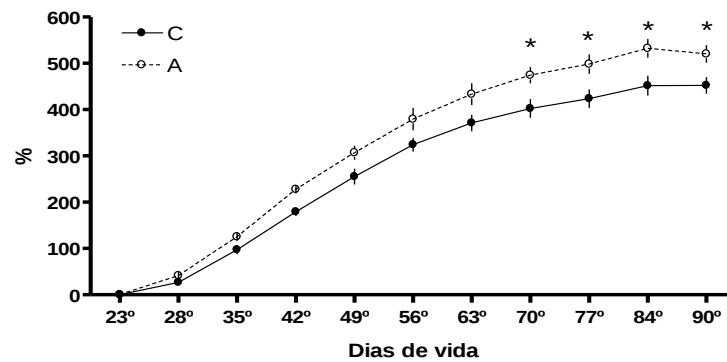
A



B



C



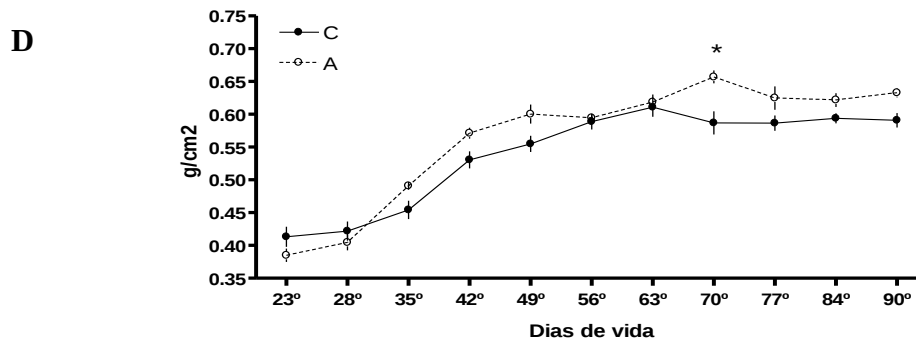


Figura 2. **A** – Peso corporal (em gramas), **B** – comprimento corporal (comprimento do nariz ao ânus, em centímetros), **C** – percentual de ganho de peso (%) e **D** - IMC (peso/comprimento², g/cm²) de ratos controle e ativos. Valores são expressos em média $\pm$ S.E.M. * C vs A, $p < 0.05$, $n=05$. Comparação entre os grupos foi realizada utilizando ANOVA two-way com pós-teste de Bonferroni.

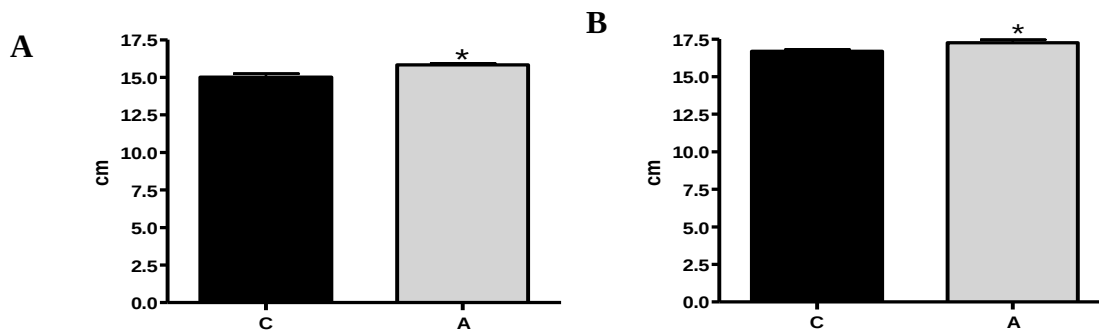


Figura 3. Circunferência torácica (A) e abdominal (B) aos 90 dias de idade de ratos controle e submetidos a atividade física voluntária. Valores expressos em média $\pm$ S.E.M. * C vs A, $p < 0.05$, $n=05$. Comparação entre os grupos foi realizada utilizando o teste t-student.

Efeitos da atividade física voluntária sobre consumo alimentar e hídrico

O consumo alimentar aumentou com a idade, estabilizado a partir dos 42 dias de idade. No entanto, a partir de 42 dias de idade (exceto 49°, 63° e 70° dia de idade), o grupo ativo consumiu maior quantidade de ração que o grupo controle (figura 4A). Quanto ao consumo hídrico aumentou com a idade, em ambos os grupos. O grupo ativo apresentou maior consumo hídrico absoluto que o controle nas idades de 35, 49, 63, 84 e 90 dias de idade.

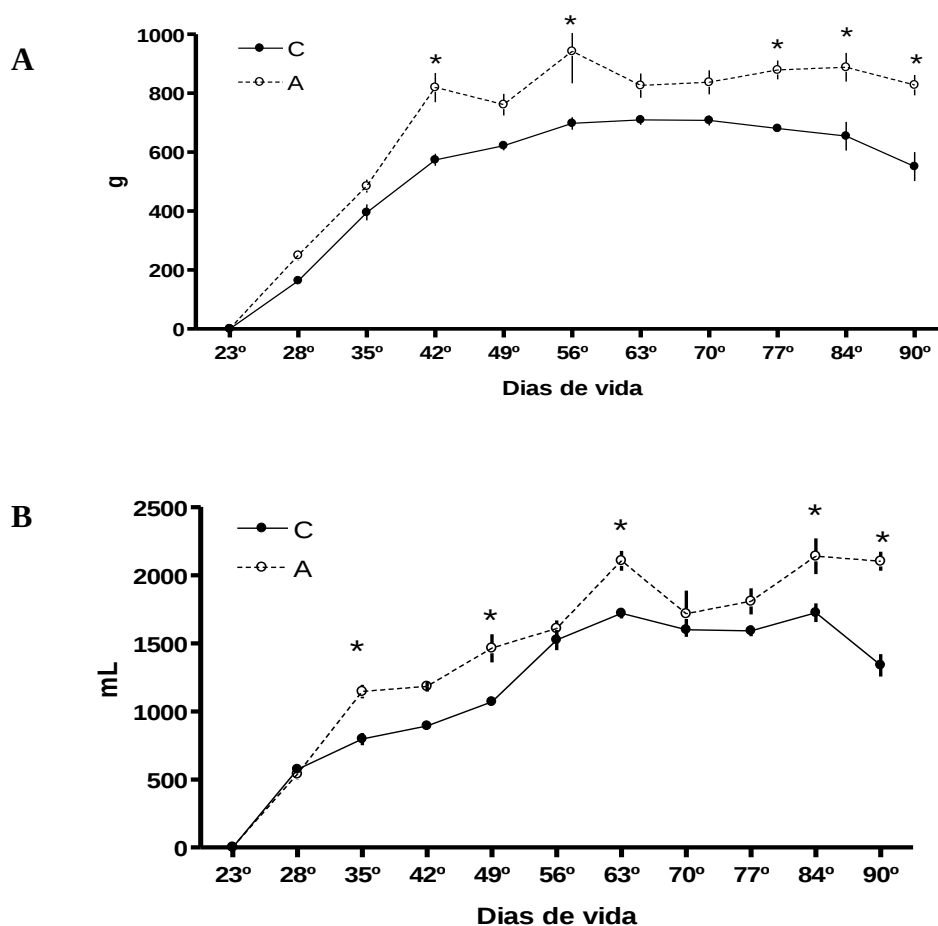


Figure 4. Consumo semanal alimentar absoluto (**A**), em gramas, e hídrico absoluto (**B**), em mililitros, aos 90 dias de idade de ratos submetidos a atividade física voluntária. Valores expressos em média $\pm$ S.E.M. * C vs A, $p < 0.05$, $n=05$. Comparação entre os grupos foi realizada utilizando ANOVA two-way com pós-teste de Bonferroni.

Efeitos da atividade física voluntária sobre a bioquímica sérica

As concentrações séricas de colesterol, triglicerídeos e proteínas foram semelhantes entre os grupos. Quanto à glicose, o grupo ativo apresentou menor glicemia em jejum comparado ao grupo controle, aos 90 dias de idade (tabela 1).

Tabela 1: Concentrações séricas de colesterol, triglicerídeos, proteínas e glicose, aos 90 dias de idade, submetidos à atividade física voluntária.

	Controle (n=05)	Ativos (n=05)
Colesterol (mg/dL)	55,42 ± 16.29	67,70 ± 21.41
Triglicerídeos (mg/dL)	30,46 ± 8.74	34,48 ± 9.39
Proteínas totais (g/dL)	6,83 ± 0,42	6,57 ± 0.36
Glicose (mg/dL)	115,05 ± 12.04	74,87 ± 40.71*

**Dados expressos em média ± S.E.M. * C vs A, p < 0.05, n=05. Comparação entre grupos usando o teste t-student.

Discussão

Os benefícios da atividade física para a saúde, como diminuição no desenvolvimento de doenças cardiovasculares e aumento da expressão de receptores de insulina, estão bem estabelecidos em humanos [6, 7, 10-12, 19]. Protocolos de atividade física voluntária em ratos com corrida em cicloergômetro existem, porém, os animais permanecem isolados durante o experimento o que dificulta seu convívio social [20, 21]. Nesta pesquisa desenvolveu-se uma gaiola para atividade física voluntária para ratos avaliando o comportamento dos animais diante da atividade física voluntária, o peso e comprimento corporal, circunferência torácica e abdominal, consumo alimentar e hídrico, concentrações séricas de colesterol, triglicerídeos, proteína total e glicose.

Os animais foram submetidos à atividade física voluntária durante 10 semanas, do 23º ao 90º dia de idade. Protocolos de atividade física voluntária para ratos variam entre 5 e 8 semanas, sendo o presente protocolo condizente com a literatura [13, 14, 22, 23]. Esses protocolos não referem a primeira semana de atividade como de adaptação. Porém, protocolos de treinamento físico consideram a primeira semana de treinamento como de adaptação [24, 25]. No presente estudo, a primeira semana de atividade física foi diferente das demais, pois, os animais realizaram

atividade física em qualquer horário do dia, não respeitando seu ciclo circadiano. Em ratos, a atividade locomotora espontânea é maior no ciclo escuro [14, 26]. Quando não se respeita o ciclo circadiano do animal, o ritmo repouso-atividade pode ser afetado causando perda de sono e fadiga prolongada, induzindo a déficits neurocomportamentais [27]. Portanto, os animais devem realizar atividade física no ciclo escuro corroborando com nossos resultados, que verificou quase ausência de atividade física no ciclo claro com realização dessa atividade no ciclo escuro.

Quanto ao peso corporal, a partir do 63º dia de idade os animais ativos apresentaram maior peso corporal e do 70º dia de idade maior percentual de ganho de peso em relação ao grupo controle. Esse aumento ao longo da atividade física pode ser atribuído ao processo de ganho de massa magra. A atividade física (corrida voluntária em cicloergômetro por 8 semanas) reduz o acúmulo de gordura corporal total, aumentando a massa magra [14, 28]. Ratos ativos (corrida em cicloergômetro por 5 semanas) o percentual de gordura na região epididimal diminuiu [5]. A massa gorda diminuiu com a atividade física para gerar energia [14]. No entanto, a massa magra aumenta devido a maior concentração de glicogênio muscular com a atividade física que é um potente modulador de genes envolvidos na regulação da massa muscular [29].

Em resposta a atividade física, ratos desenvolvem uma adaptação fenotípica a fim de manter o maior potencial aeróbio [14]. Alterações morfológicas de órgãos internos envolvidos na absorção de nutrientes e distribuição energética são observadas em animais ativos [14]. Após 8 semanas de corrida voluntária em cicloergômetro observou-se hipertrofia de órgãos como intestino delgado e grosso, fígado, coração e rim [14]. Com o aumento no tamanho dos referidos órgãos as circunferências torácica e abdominal apresentaram-se aumentada em nosso experimento. Esses resultados demonstram uma flexibilidade fenotípica do tórax e abdômen em consequência a hipertrofia dos órgãos viscerais, frente à atividade física.

Os ratos submetidos a atividade física voluntária consumiram maior quantidade de alimento e água que o controle. Animais ativos (corrida voluntária em cicloergômetro por 8 semanas) consomem mais alimentos que seus pares sedentários, sendo a ingestão calórica positivamente relacionada ao peso corporal, massa gorda e ganho de massa magra [14, 30]. Pois, com a atividade física ocorre um maior gasto energético necessitando aumento da demanda por alimento.

Apesar do aumento do consumo alimentar, a glicose dos animais da presente pesquisa foi menor em relação ao controle devido ao aumento do potencial aeróbio gerado pela atividade física. A atividade física voluntária (cicloergômetro por 1, 2 ou 4 semanas ou corrida em pista rotativa por 5 semanas) hipertrofia a fibra muscular e aumenta a capacidade oxidativa do músculo [13, 22]. A atividade física (cinco semanas de execução roda voluntária) aumenta a atividade da enzima citrato sintase e da proteína GLUT4 correspondendo a um aumento da capacidade de transporte de glicose [23].

Neste estudo, os efeitos da atividade física voluntária para ratos machos Wistar foram descritos. Adaptações fenotípicas à atividade física (peso corporal, circunferência torácica e abdominal e glicemia) podem ser evidenciadas. Nossos resultados podem ser usados em estudos destinados a demonstrar os efeitos da atividade física voluntária sobre os sistemas circulatório, digestório e locomotor.

Agradecimentos

Agradecemos ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

Referências

1. Caspersen, C.J., K.E. Powell, and G.M. Christenson, *Physical activity, exercise, and physical fitness: definitions and distinctions for health-related research*. Public Health Rep, 1985. **100**(2): p. 126-31.
2. Forsum, E., M. Lof, and D.A. Schoeller, *Calculation of energy expenditure in women using the MET system*. Med Sci Sports Exerc, 2006. **38**(8): p. 1520-5.
3. Fjeldsoe, B.S., A.L. Marshall, and Y.D. Miller, *Measurement Properties of the Australian Women's Activity Survey*. Med Sci Sports Exerc, 2009.
4. Coppen, A.M., J.A. Risser, and P.D. Vash, *Metabolic syndrome resolution in children and adolescents after 10 weeks of weight loss*. J Cardiometab Syndr, 2008. **3**(4): p. 205-10.
5. Fediuc, S., J.E. Campbell, and M.C. Riddell, *Effect of voluntary wheel running on circadian corticosterone release and on HPA axis responsiveness to restraint stress in Sprague-Dawley rats*. J Appl Physiol, 2006. **100**(6): p. 1867-75.
6. Maruthur, N.M., N.Y. Wang, and L.J. Appel, *Lifestyle Interventions Reduce Coronary Heart Disease Risk. Results From the PREMIER Trial*. Circulation, 2009.
7. Singh, A.S., et al., *Dutch obesity intervention in teenagers: effectiveness of a school-based program on body composition and behavior*. Arch Pediatr Adolesc Med, 2009. **163**(4): p. 309-17.
8. Ekelund, U., et al., *Prevalence and correlates of the metabolic syndrome in a population-based sample of European youth*. Am J Clin Nutr, 2009. **89**(1): p. 90-6.
9. Dancy, C., V. Lohsoonthorn, and M.A. Williams, *Risk of dyslipidemia in relation to level of physical activity among Thai professional and office workers*. Southeast Asian J Trop Med Public Health, 2008. **39**(5): p. 932-41.
10. Tjonna, A.E., et al., *Aerobic interval training versus continuous moderate exercise as a treatment for the metabolic syndrome: a pilot study*. Circulation, 2008. **118**(4): p. 346-54.
11. Zoladz, J.A., et al., *Endurance training increases plasma brain-derived neurotrophic factor concentration in young healthy men*. J Physiol Pharmacol, 2008. **59 Suppl 7**: p. 119-32.
12. Bye, A., et al., *Transcriptional changes in blood after aerobic interval training in patients with the metabolic syndrome*. Eur J Cardiovasc Prev Rehabil, 2009. **16**(1): p. 47-52.
13. De Bono, J.P., et al., *Novel quantitative phenotypes of exercise training in mouse models*. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2006. **290**(4): p. R926-34.
14. Swallow, J.G., et al., *Phenotypic and evolutionary plasticity of body composition in rats selectively bred for high endurance capacity*. J Appl Physiol, 2010. **109**(3): p. 778-85.
15. Cambras, T., L. Castejon, and A. Diez-Noguera, *Social interaction and sex differences influence rat temperature circadian rhythm under LD cycles and constant light*. Physiol Behav, 2011. **103**(3-4): p. 365-71.
16. Pires-de-Melo, I.H., et al., *Short- and long-term effects of a neonatal low-protein diet in rats on the morphology of the larynx*. Nutrition, 2009. **25**(7-8): p. 855-60.
17. Novelli, E.L., et al., *Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats*. Lab Anim, 2007. **41**(1): p. 111-9.
18. Fagundes, A.T., et al., *Temporal evaluation of body composition, glucose homeostasis and lipid profile of male rats programmed by maternal protein restriction during lactation*. Horm Metab Res, 2009. **41**(12): p. 866-73.

19. Bener, A., et al., *Prevalence of Metabolic Syndrome According to Adult Treatment Panel III and International Diabetes Federation Criteria: A Population-Based Study*. Metab Syndr Relat Disord, 2009.
20. Scarpace, P.J., M. Matheny, and Y. Zhang, *Wheel running eliminates high-fat preference and enhances leptin signaling in the ventral tegmental area*. Physiol Behav, 2010. **100**(2): p. 173-9.
21. Basterfield, L., J.M. Reul, and J.C. Mathers, *Impact of physical activity on intestinal cancer development in mice*. J Nutr, 2005. **135**(12 Suppl): p. 3002S-3008S.
22. Harrison, B.C., et al., *Skeletal muscle adaptations in response to voluntary wheel running in myosin heavy chain null mice*. J Appl Physiol, 2002. **92**(1): p. 313-22.
23. Rodnick, K.J., et al., *Exercise training, glucose transporters, and glucose transport in rat skeletal muscles*. Am J Physiol, 1992. **262**(1 Pt 1): p. C9-14.
24. Leandro, C.G., et al., *A program of moderate physical training for Wistar rats based on maximal oxygen consumption*. J Strength Cond Res, 2007. **21**(3): p. 751-6.
25. Amorim, M.F., et al., *Can physical exercise during gestation attenuate the effects of a maternal perinatal low-protein diet on oxygen consumption in rats?* Exp Physiol, 2009. **94**(8): p. 906-13.
26. Zhang, B. and F. Sannajust, *Diurnal rhythms of blood pressure, heart rate, and locomotor activity in adult and old male Wistar rats*. Physiol Behav, 2000. **70**(3-4): p. 375-80.
27. Calogiuri, G., A. Weydahl, and E. Roveda, *Effects of Sleep Loss and Strenuous Physical Activity on the Rest-Activity Circadian Rhythm: A Study on 500 km and 1,000 km Dogsled Racers*. Biol Res Nurs, 2010.
28. Teske, J.A., et al., *Spontaneous physical activity protects against fat mass gain*. Int J Obes (Lond), 2011.
29. Churchley, E.G., et al., *Influence of preexercise muscle glycogen content on transcriptional activity of metabolic and myogenic genes in well-trained humans*. J Appl Physiol, 2007. **102**(4): p. 1604-11.
30. Swallow, J.G., et al., *Food consumption and body composition in mice selected for high wheel-running activity*. J Comp Physiol B, 2001. **171**(8): p. 651-9.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A desnutrição, em ratos, durante a gestação e lactação reduz o crescimento somático dos animais. O déficit causado pela desnutrição perinatal é compensado pelo treinamento físico moderado. Além disso, o treinamento físico reverteu o aumento de leptina do tecido adiposo visceral induzidos pela desnutrição perinatal. Acredita-se que o treinamento físico re-programe o padrão fenotípico adulto para parâmetros somáticos e de leptinemia do tecido adiposo determinado pela desnutrição perinatal.

A gaiola de atividade física voluntária mostrou ser um meio eficaz na indução de atividade física espontânea em ratos. Além de respeitar a vontade dos animais, sem interferir em sua socialização, sendo portanto, mais fisiológico que outros métodos de atividade física voluntária existentes. A atividade física voluntária em ratos jovens leva a alterações fenotípicas nos parâmetros somáticos (aumento do peso corporal, da circunferência torácica e abdominal) e da glicemia com sua diminuição.

Adaptações fenotípicas à atividade física voluntária (peso corporal, circunferência torácica e abdominal e glicemia) e readaptações fenotípicas da desnutrição perinatal ao treinamento físico (leptina no tecido adiposo) podem ser evidenciadas.

Perspectivas

A partir do presente estudo, novas hipóteses foram construídas e algumas perspectivas sugeridas para a continuação desses estudos. Dentre elas:

- Normalizar a atividade física voluntária em ratos na gaiola de atividade física voluntária identificando cada animal da gaiola.
- Avaliar as repercussões da atividade física voluntária em ratos desnutridos no período perinatal sobre: parâmetros somáticos, bioquímicos séricos (perfil lipídico e protéico, glicemia e leptinemia), leptinemia no tecido adiposo.
- Avaliar a influência da atividade física voluntária em crianças com baixo peso ao nascer sobre: parâmetros somáticos, bioquímicos séricos (perfil lipídico e protéico, glicemia e leptinemia), leptinemia no tecido adiposo.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

- AMORIM, M. F.; DOS SANTOS, J. A.; HIRABARA, S. M.; NASCIMENTO, E.; DE SOUZA, S. L.; DE CASTRO, R. M.; CURI, R.; LEANDRO, C. G. Can physical exercise during gestation attenuate the effects of a maternal perinatal low-protein diet on oxygen consumption in rats? *Exp Physiol* [S.I.], v. 94, n. 8, p. 906-13, Aug 2009.
- BARKER, D. J. The origins of the developmental origins theory. *J Intern Med* [S.I.], v. 261, n. 5, p. 412-7, May 2007.
- BARKER, D. J.; OSMOND, C. Infant mortality, childhood nutrition, and ischaemic heart disease in England and Wales. *Lancet* [S.I.], v. 1, n. 8489, p. 1077-81, May 10 1986.
- BARKER, D. J.; OSMOND, C.; GOLDING, J.; KUH, D.; WADSWORTH, M. E. Growth in utero, blood pressure in childhood and adult life, and mortality from cardiovascular disease. *BMJ* [S.I.], v. 298, n. 6673, p. 564-7, Mar 4 1989.
- BASTERFIELD, L.; REUL, J. M.; MATHERS, J. C. Impact of physical activity on intestinal cancer development in mice. *J Nutr* [S.I.], v. 135, n. 12 Suppl, p. 3002S-3008S, Dec 2005.
- BATISTA FILHO, M.; RISSIN, A. [Nutritional transition in Brazil: geographic and temporal trends]. *Cad Saude Publica* [S.I.], v. 19 Suppl 1, p. S181-91, 2003.
- BAYNE, C. G. American Academy of Home Care Physicians. Are you ready for this? *Home Care Provid* [S.I.], v. 1, n. 3, p. 162-3, May-Jun 1996.
- BENER, A.; ZIRIE, M.; MUSALLAM, M.; KHADER, Y. S.; AL-HAMAAQ, A. O. Prevalence of Metabolic Syndrome According to Adult Treatment Panel III and International Diabetes Federation Criteria: A Population-Based Study. *Metab Syndr Relat Disord* [S.I.], Mar 25 2009.
- BOL, V. V.; DELATTRE, A. I.; REUSENS, B.; RAES, M.; REMACLE, C. Forced catch-up growth after fetal protein restriction alters the adipose tissue gene expression program leading to obesity in adult mice. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* [S.I.], v. 297, n. 2, p. R291-9, Aug 2009.
- BONOMO, I. T.; LISBOA, P. C.; PASSOS, M. C.; PAZOS-MOURA, C. C.; REIS, A. M.; MOURA, E. G. Prolactin inhibition in lactating rats changes leptin transfer through the milk. *Horm Metab Res* [S.I.], v. 37, n. 4, p. 220-5, Apr 2005.
- BYE, A.; TJONNA, A. E.; STOLEN, T. O.; ROSBJORGEN, R. E.; WISLOFF, U. Transcriptional changes in blood after aerobic interval training in patients with the metabolic syndrome. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* [S.I.], v. 16, n. 1, p. 47-52, Feb 2009.

CALOGIURI, G.; WEYDAHL, A.; ROVEDA, E. Effects of sleep loss and strenuous physical activity on the rest-activity circadian rhythm: a study on 500 km and 1,000 km dogsled racers. *Biol Res Nurs* [S.I.], v. 13, n. 4, p. 409-18, Oct 2011.

CALVISI, V.; DE VINCENTIIS, B.; PALUMBO, P.; PADUA, R.; LUPPARELLI, S. Health-related quality of life in patients with anterior cruciate ligament insufficiency undergoing arthroscopic reconstruction: a practice-based Italian normative group in comorbid-free patients. *J Orthop Traumatol* [S.I.], v. 9, n. 4, p. 233-8, Dec 2008.

CAMBRAS, T.; CASTEJON, L.; DIEZ-NOGUERA, A. Social interaction and sex differences influence rat temperature circadian rhythm under LD cycles and constant light. *Physiol Behav* [S.I.], v. 103, n. 3-4, p. 365-71, Jun 1 2011.

CASPERSEN, C. J.; POWELL, K. E.; CHRISTENSON, G. M. Physical activity, exercise, and physical fitness: definitions and distinctions for health-related research. *Public Health Rep* [S.I.], v. 100, n. 2, p. 126-31, Mar-Apr 1985.

CHURCHLEY, E. G.; COFFEY, V. G.; PEDERSEN, D. J.; SHIELD, A.; CAREY, K. A.; CAMERON-SMITH, D.; HAWLEY, J. A. Influence of preexercise muscle glycogen content on transcriptional activity of metabolic and myogenic genes in well-trained humans. *J Appl Physiol* [S.I.], v. 102, n. 4, p. 1604-11, Apr 2007.

CONCEICAO, E. P.; TREVENZOLI, I. H.; OLIVEIRA, E.; FRANCO, J. G.; CARLOS, A. S.; NASCIMENTO-SABA, C. C.; MOURA, E. G.; LISBOA, P. C. Higher white adipocyte area and lower leptin production in adult rats overfed during lactation. *Horm Metab Res* [S.I.], v. 43, n. 7, p. 513-6, Jun 2011.

COPPEN, A. M.; RISSER, J. A.; VASH, P. D. Metabolic syndrome resolution in children and adolescents after 10 weeks of weight loss. *J Cardiometab Syndr* [S.I.], v. 3, n. 4, p. 205-10, Fall 2008.

DANCY, C.; LOHSOONTHORN, V.; WILLIAMS, M. A. Risk of dyslipidemia in relation to level of physical activity among Thai professional and office workers. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* [S.I.], v. 39, n. 5, p. 932-41, Sep 2008.

DE-MELLO, M. A. Effects of intrauterine and postnatal protein-calorie malnutrition on metabolic adaptations to exercise in young rats. *Braz J Med Biol Res* [S.I.], v. 27, n. 10, p. 2461-6, Oct 1994.

DE BONO, J. P.; ADLAM, D.; PATERSON, D. J.; CHANNON, K. M. Novel quantitative phenotypes of exercise training in mouse models. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* [S.I.], v. 290, n. 4, p. R926-34, Apr 2006.

DE CAMPOS, K. E.; SINZATO, Y. K.; PIMENTA WDE, P.; RUDGE, M. V.; DAMASCENO, D. C. Effect of maternal obesity on diabetes development in adult rat offspring. *Life Sci* [S.I.], v. 81, n. 19-20, p. 1473-8, Oct 27 2007.

DIETZ, W. H.; BENKEN, D. E.; HUNTER, A. S. Public health law and the prevention and control of obesity. *Milbank Q* [S.I.], v. 87, n. 1, p. 215-27, Mar 2009.

DOBBING, J. The development of the blood-brain barrier. *Prog Brain Res* [S.I.], v. 29, p. 417-27, 1968.

DOMINGUEZ, L. J.; GALIOTO, A.; PINEO, A.; FERLISI, A.; VERNUCCIO, L.; BELVEDERE, M.; COSTANZA, G.; PUTIGNANO, E.; BARBAGALLO, M. Blood pressure and cardiovascular risk profiles of Africans who migrate to a Western country. *Ethn Dis* [S.I.], v. 18, n. 4, p. 512-8, Autumn 2008.

DUTRA, S. C.; MOURA, E. G.; RODRIGUES, A. L.; LISBOA, P. C.; BONOMO, I.; TOSTE, F. P.; PASSOS, M. C. Cold exposure restores the decrease in leptin receptors (OB-Rb) caused by neonatal leptin treatment in 30-day-old rats. *J Endocrinol* [S.I.], v. 195, n. 2, p. 351-8, Nov 2007.

EKELUND, U.; ANDERSSSEN, S.; ANDERSEN, L. B.; RIDDOCH, C. J.; SARDINHA, L. B.; LUAN, J.; FROBERG, K.; BRAGE, S. Prevalence and correlates of the metabolic syndrome in a population-based sample of European youth. *Am J Clin Nutr* [S.I.], v. 89, n. 1, p. 90-6, Jan 2009.

FAGUNDES, A. T.; MOURA, E. G.; PASSOS, M. C.; OLIVEIRA, E.; TOSTE, F. P.; BONOMO, I. T.; TREVENZOLI, I. H.; GARCIA, R. M.; LISBOA, P. C. Maternal low-protein diet during lactation programmes body composition and glucose homeostasis in the adult rat offspring. *Br J Nutr* [S.I.], v. 98, n. 5, p. 922-8, Nov 2007.

FEDIUC, S.; CAMPBELL, J. E.; RIDDELL, M. C. Effect of voluntary wheel running on circadian corticosterone release and on HPA axis responsiveness to restraint stress in Sprague-Dawley rats. *J Appl Physiol* [S.I.], v. 100, n. 6, p. 1867-75, Jun 2006.

FIEBIG, R. G.; HOLLANDER, J. M.; NEY, D.; BOILEAU, R.; JEFFERY, E.; JI, L. L. Training down-regulates fatty acid synthase and body fat in obese Zucker rats. *Med Sci Sports Exerc* [S.I.], v. 34, n. 7, p. 1106-14, Jul 2002.

FJELDSOE, B. S.; MARSHALL, A. L.; MILLER, Y. D. Measurement Properties of the Australian Women's Activity Survey. *Med Sci Sports Exerc* [S.I.], Apr 3 2009.

FORSDAHL, A.; WAALER, H. T. [Height and weight of Norwegians during the late 1960's]. *Tidsskr Nor Laegeforen* [S.I.], v. 96, n. 4, p. 215-9, Feb 10 1976.

FORSUM, E.; LOF, M.; SCHOELLER, D. A. Calculation of energy expenditure in women using the MET system. *Med Sci Sports Exerc* [S.I.], v. 38, n. 8, p. 1520-5, Aug 2006.

GHAEMMAGHAMI, F.; SASSOLAS, A.; GAUQUELIN, G.; FAVIER, R.; VINCENT, M.; SASSARD, J.; GHARIB, C. Swim training in genetically hypertensive rats of the Lyon strain: effects on plasma lipids and lipoproteins. *J Hypertens* [S.I.], v. 4, n. 3, p. 319-24, Jun 1986.

GLUCKMAN, P. D.; HANSON, M. A. The developmental origins of the metabolic syndrome. *Trends Endocrinol Metab* [S.I.], v. 15, n. 4, p. 183-7, May-Jun 2004.

- GOLALIPOUR, M. J.; KHORI, V. The protective activity of *Urtica dioica* leaves on blood glucose concentration and beta-cells in streptozotocin-diabetic rats. *Pak J Biol Sci* [S.I.], v. 10, n. 8, p. 1200-4, Apr 15 2007.
- GUAN, H.; ARANY, E.; VAN BEEK, J. P.; CHAMSON-REIG, A.; THYSSEN, S.; HILL, D. J.; YANG, K. Adipose tissue gene expression profiling reveals distinct molecular pathways that define visceral adiposity in offspring of maternal protein-restricted rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* [S.I.], v. 288, n. 4, p. E663-73, Apr 2005.
- GUPTA, R. Recent trends in coronary heart disease epidemiology in India. *Indian Heart J* [S.I.], v. 60, n. 2 Suppl B, p. B4-18, Mar-Apr 2008.
- GUTIN, B. Diet vs exercise for the prevention of pediatric obesity: the role of exercise. *Int J Obes (Lond)* [S.I.], v. 35, n. 1, p. 29-32, Jan 2011.
- HALES, C. N.; BARKER, D. J. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. *Diabetologia* [S.I.], v. 35, n. 7, p. 595-601, Jul 1992.
- HALES, C. N.; BARKER, D. J.; CLARK, P. M.; COX, L. J.; FALL, C.; OSMOND, C.; WINTER, P. D. Fetal and infant growth and impaired glucose tolerance at age 64. *BMJ* [S.I.], v. 303, n. 6809, p. 1019-22, Oct 26 1991.
- HARRISON, B. C.; BELL, M. L.; ALLEN, D. L.; BYRNES, W. C.; LEINWAND, L. A. Skeletal muscle adaptations in response to voluntary wheel running in myosin heavy chain null mice. *J Appl Physiol* [S.I.], v. 92, n. 1, p. 313-22, Jan 2002.
- HERCBERG, S.; CHAT-YUNG, S.; CHAULIA, M. The French National Nutrition and Health Program: 2001-2006-2010. *Int J Public Health* [S.I.], v. 53, n. 2, p. 68-77, 2008.
- HIRABARA, S. M.; SILVEIRA, L. R.; ABDULKADER, F. R.; ALBERICI, L. C.; PROCOPIO, J.; CARVALHO, C. R.; PITHON-CURI, T. C.; CURI, R. Role of fatty acids in the transition from anaerobic to aerobic metabolism in skeletal muscle during exercise. *Cell Biochem Funct* [S.I.], v. 24, n. 6, p. 475-81, Nov-Dec 2006.
- IVANOVIC, D.; CASTRO, C. G.; IVANOVIC, R. [Food and nutrition knowledge of elementary and high school-age children from Chile's Metropolitan Region]. *Rev Med Chil* [S.I.], v. 124, n. 9, p. 1058-70, Sep 1996.
- KOURY, J. C.; DE OLIVEIRA KDE, J.; LOPES, G. C.; DE OLIVEIRA, A. V., JR.; PORTELLA, E. S.; DE MOURA, E. G.; DONANGELO, C. M. Plasma zinc, copper, leptin, and body composition are associated in elite female judo athletes. *Biol Trace Elem Res* [S.I.], v. 115, n. 1, p. 23-30, Jan 2007.
- LEANDRO, C. G.; DA SILVA RIBEIRO, W.; DOS SANTOS, J. A.; BENTO-SANTOS, A.; LIMA-COELHO, C. H.; FALCAO-TEBAS, F.; LAGRANHA, C. J.; LOPES-DE-SOUZA, S.; MANHAES-DE-CASTRO, R.; TOSCANO, A. E. Moderate physical training attenuates muscle-

specific effects on fibre type composition in adult rats submitted to a perinatal maternal low-protein diet. *Eur J Nutr* [S.I.], Oct 29 2011.

LEANDRO, C. G.; LEVADA, A. C.; HIRABARA, S. M.; MANHAES-DE-CASTRO, R.; DE-CASTRO, C. B.; CURI, R.; PITHON-CURI, T. C. A program of moderate physical training for Wistar rats based on maximal oxygen consumption. *J Strength Cond Res* [S.I.], v. 21, n. 3, p. 751-6, Aug 2007.

LEANDRO, C. G.; MARTINS DE LIMA, T.; FOLADOR, A.; ALBA-LOREIRO, T.; DO NASCIMENTO, E.; MANHAES DE CASTRO, R.; DE CASTRO, C. M.; PITHON-CURI, T.; CURI, R. Physical training attenuates the stress-induced changes in rat T-lymphocyte function. *Neuroimmunomodulation* [S.I.], v. 13, n. 2, p. 105-13, 2006.

LIU, N.; MAO, L.; SUN, X.; LIU, L.; YAO, P.; CHEN, B. The effect of health and nutrition education intervention on women's postpartum beliefs and practices: a randomized controlled trial. *BMC Public Health* [S.I.], v. 9, p. 45, 2009.

LUCAS, A. Programming by early nutrition in man. *Ciba Found Symp* [S.I.], v. 156, p. 38-50; discussion 50-5, 1991.

LUCAS, A.; BAKER, B. A.; DESAI, M.; HALES, C. N. Nutrition in pregnant or lactating rats programs lipid metabolism in the offspring. *Br J Nutr* [S.I.], v. 76, n. 4, p. 605-12, Oct 1996.

LUSSANA, F.; PAINTER, R. C.; OCKE, M. C.; BULLER, H. R.; BOSSUYT, P. M.; ROSEBOOM, T. J. Prenatal exposure to the Dutch famine is associated with a preference for fatty foods and a more atherogenic lipid profile. *Am J Clin Nutr* [S.I.], v. 88, n. 6, p. 1648-52, Dec 2008.

MALLINSON, J. E.; SCULLEY, D. V.; CRAIGON, J.; PLANT, R.; LANGLEY-EVANS, S. C.; BRAMELD, J. M. Fetal exposure to a maternal low-protein diet during mid-gestation results in muscle-specific effects on fibre type composition in young rats. *Br J Nutr* [S.I.], v. 98, n. 2, p. 292-9, Aug 2007.

MARCONDES, F. K.; BIANCHI, F. J.; TANNO, A. P. Determination of the estrous cycle phases of rats: some helpful considerations. *Braz J Biol* [S.I.], v. 62, n. 4A, p. 609-14, Nov 2002.

MARUTHUR, N. M.; WANG, N. Y.; APPEL, L. J. Lifestyle Interventions Reduce Coronary Heart Disease Risk. Results From the PREMIER Trial. *Circulation* [S.I.], Apr 6 2009.

MATTHEWS, D. R.; HOSKER, J. P.; RUDENSKI, A. S.; NAYLOR, B. A.; TREACHER, D. F.; TURNER, R. C. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* [S.I.], v. 28, n. 7, p. 412-9, Jul 1985.

MINANA-SOLIS MDEL, C.; ESCOBAR, C. Post-weaning protein malnutrition in the rat produces short and long term metabolic impairment, in contrast to earlier and later periods. *Int J Biol Sci* [S.I.], v. 4, n. 6, p. 422-32, 2008.

MIYAZAKI, S.; IZAWA, T.; OGASAWARA, J. E.; SAKURAI, T.; NOMURA, S.; KIZAKI, T.; OHNO, H.; KOMABAYASHI, T. Effect of exercise training on adipocyte-size-dependent expression of leptin and adiponectin. *Life Sci* [S.I.], v. 86, n. 17-18, p. 691-8, Apr 24 2010.

MOITA, L.; LUSTOSA, M. F.; SILVA, A. T.; PIRES-DE-MELO, I. H.; DE MELO, R. J.; DE CASTRO, R. M.; FILHO, N. T.; FERRAZ, J. C.; LEANDRO, C. G. Moderate physical training attenuates the effects of perinatal undernutrition on the morphometry of the splenic lymphoid follicles in endotoxemic adult rats. *Neuroimmunomodulation* [S.I.], v. 18, n. 2, p. 103-10, 2011.

MORGANE, P. J.; AUSTIN-LAFRANCE, R.; BRONZINO, J.; TONKISS, J.; DIAZ-CINTRA, S.; CINTRA, L.; KEMPER, T.; GALLER, J. R. Prenatal malnutrition and development of the brain. *Neurosci Biobehav Rev* [S.I.], v. 17, n. 1, p. 91-128, Spring 1993.

MORGANE, P. J.; MILLER, M.; KEMPER, T.; STERN, W.; FORBES, W.; HALL, R.; BRONZINO, J.; HAWRYLEWICZ, E.; RESNICK, O. The effects of protein malnutrition on the developing central nervous system in the rat. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* [S.I.], v. 2, p. 137-230, 1978.

MORLEY, R.; LUCAS, A. Randomized diet in the neonatal period and growth performance until 7.5-8 y of age in preterm children. *Am J Clin Nutr* [S.I.], v. 71, n. 3, p. 822-8, Mar 2000.

MORTAZ, M.; FEWTRELL, M. S.; COLE, T. J.; LUCAS, A. Birth weight, subsequent growth, and cholesterol metabolism in children 8-12 years old born preterm. *Arch Dis Child* [S.I.], v. 84, n. 3, p. 212-7, Mar 2001.

NOBACK, C. R.; EISENMAN, L. M. Some effects of protein-calorie undernutrition on the developing central nervous system of the rat. *Anat Rec* [S.I.], v. 201, n. 1, p. 67-73, Sep 1981.

NOVELLI, E. L.; DINIZ, Y. S.; GALHARDI, C. M.; EBAID, G. M.; RODRIGUES, H. G.; MANI, F.; FERNANDES, A. A.; CICOGNA, A. C.; NOVELLI FILHO, J. L. Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. *Lab Anim* [S.I.], v. 41, n. 1, p. 111-9, Jan 2007.

OAKES, N. D.; COONEY, G. J.; CAMILLERI, S.; CHISHOLM, D. J.; KRAEGEN, E. W. Mechanisms of liver and muscle insulin resistance induced by chronic high-fat feeding. *Diabetes* [S.I.], v. 46, n. 11, p. 1768-74, Nov 1997.

OZANNE, S. E.; HALES, C. N. Lifespan: catch-up growth and obesity in male mice. *Nature* [S.I.], v. 427, n. 6973, p. 411-2, Jan 29 2004.

PASSOS, M. C.; RAMOS, C. F.; BERNARDO-FILHO, M.; DE MATTOS, D. M.; MOURA, E. G. The effect of protein or energy restriction on the biodistribution of Na99TcmO4 in Wistar rats. *Nucl Med Commun* [S.I.], v. 21, n. 11, p. 1059-62, Nov 2000.

- PAZ-FILHO, G. J.; VOLACO, A.; SUPLICY, H. L.; RADOMINSKI, R. B.; BOGUSZEWSKI, C. L. Decrease in leptin production by the adipose tissue in obesity associated with severe metabolic syndrome. *Arq Bras Endocrinol Metabol* [S.I.], v. 53, n. 9, p. 1088-95, Dec 2009.
- PETRIDOU, A.; TSALOUHIDOU, S.; TSALIS, G.; SCHULZ, T.; MICHNA, H.; MOUGIOS, V. Long-term exercise increases the DNA binding activity of peroxisome proliferator-activated receptor gamma in rat adipose tissue. *Metabolism* [S.I.], v. 56, n. 8, p. 1029-36, Aug 2007.
- PINHEIRO, C. R.; OLIVEIRA, E.; TREVENZOLI, I. H.; MANHAES, A. C.; SANTOS-SILVA, A. P.; YOUNES-RAPOZO, V.; CLAUDIO-NETO, S.; SANTANA, A. C.; NASCIMENTO-SABA, C. C.; MOURA, E. G.; LISBOA, P. C. Developmental plasticity in adrenal function and leptin production primed by nicotine exposure during lactation: gender differences in rats. *Horm Metab Res* [S.I.], v. 43, n. 10, p. 693-701, Sep 2011.
- PIRES-DE-MELO, I. H.; WANDERLEY DOS REIS, F.; LUZ, L. S.; PAZ, S. T.; SILVA, H. J.; SOUZA, S. L.; LEANDRO, C. G. Short- and long-term effects of a neonatal low-protein diet in rats on the morphology of the larynx. *Nutrition* [S.I.], v. 25, n. 7-8, p. 855-60, Jul-Aug 2009.
- POPKIN, B. M. Nutrition in transition: the changing global nutrition challenge. *Asia Pac J Clin Nutr* [S.I.], v. 10 Suppl, p. S13-8, 2001.
- RAVELLI, G. P.; STEIN, Z. A.; SUSSER, M. W. Obesity in young men after famine exposure in utero and early infancy. *N Engl J Med* [S.I.], v. 295, n. 7, p. 349-53, Aug 12 1976.
- REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY, G. C., JR. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr* [S.I.], v. 123, n. 11, p. 1939-51, Nov 1993.
- RESNICK, O.; MILLER, M.; FORBES, W.; HALL, R.; KEMPER, T.; BRONZINO, J.; MORGANE, P. J. Developmental protein malnutrition: influences on the central nervous system of the rat. *Neurosci Biobehav Rev* [S.I.], v. 3, n. 4, p. 233-46, Winter 1979.
- RODNICK, K. J.; HENRIKSEN, E. J.; JAMES, D. E.; HOLLOSZY, J. O. Exercise training, glucose transporters, and glucose transport in rat skeletal muscles. *Am J Physiol* [S.I.], v. 262, n. 1 Pt 1, p. C9-14, Jan 1992.
- SCARPACE, P. J.; MATHENY, M.; ZHANG, Y. Wheel running eliminates high-fat preference and enhances leptin signaling in the ventral tegmental area. *Physiol Behav* [S.I.], v. 100, n. 2, p. 173-9, May 11 2010.
- SCHLITT, J. M.; SCHULZ, L. C. The source of leptin, but not leptin depletion in response to food restriction, changes during early pregnancy in mice. *Endocrine* [S.I.], Nov 1 2011.
- SCHRAMM, J. M. D. A.; OLIVEIRA, A. F. D.; LEITE, I. D. C.; VALENTE, J. G.; GADELHA, Â. M. J.; PORTELA, M. C.; CAMPOS, M. R. Transição epidemiológica e o estudo de carga de doença no Brasil. *Ciência & Saúde Coletiva* [S.I.], v. 9, n. 4, p. 897-908, 2004.

- SEEHERMAN, H. J.; TAYLOR, C. R.; MALOIY, G. M.; ARMSTRONG, R. B. Design of the mammalian respiratory system. II. Measuring maximum aerobic capacity. *Respir Physiol* [S.I.], v. 44, n. 1, p. 11-23, Apr 1981.
- SILVA, H. J. D.; MARINHO, S. M. O. C.; SILVA, A. E. T. M. D.; ALBUQUERQUE, C. G. D.; MORAES, S. R. A. D.; MANHÃES-DE-CASTRO, R. Protocol of mensuration to evaluate of indicators of somatic development of wistar rats. *International Journal of Morphology* [S.I.], v. 23, n. 3, p. 227-230, 2005.
- SINGH, A. S.; CHIN, A. P. M. J.; BRUG, J.; VAN MECHELEN, W. Dutch obesity intervention in teenagers: effectiveness of a school-based program on body composition and behavior. *Arch Pediatr Adolesc Med* [S.I.], v. 163, n. 4, p. 309-17, Apr 2009.
- STEINBERG, G. R.; SMITH, A. C.; WORMALD, S.; MALENFANT, P.; COLLIER, C.; DYCK, D. J. Endurance training partially reverses dietary-induced leptin resistance in rodent skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab* [S.I.], v. 286, n. 1, p. E57-63, Jan 2004.
- SWALLOW, J. G.; WROBLEWSKA, A. K.; WATERS, R. P.; RENNER, K. J.; BRITTON, S. L.; KOCH, L. G. Phenotypic and evolutionary plasticity of body composition in rats selectively bred for high endurance capacity. *J Appl Physiol* [S.I.], v. 109, n. 3, p. 778-85, Sep 2010.
- TEIXEIRA, C.; PASSOS, M.; RAMOS, C.; DUTRA, S.; MOURA, E. Leptin serum concentration, food intake and body weight in rats whose mothers were exposed to malnutrition during lactation. *J Nutr Biochem* [S.I.], v. 13, n. 8, p. 493, Aug 2002.
- TESKE, J. A.; BILLINGTON, C. J.; KUSKOWSKI, M. A.; KOTZ, C. M. Spontaneous physical activity protects against fat mass gain. *Int J Obes (Lond)* [S.I.], May 24 2011.
- TJONNA, A. E.; LEE, S. J.; ROGNMO, O.; STOLEN, T. O.; BYE, A.; HARAM, P. M.; LOENNECHEN, J. P.; AL-SHARE, Q. Y.; SKOGVOLL, E.; SLORDAHL, S. A.; KEMI, O. J.; NAJJAR, S. M.; WISLOFF, U. Aerobic interval training versus continuous moderate exercise as a treatment for the metabolic syndrome: a pilot study. *Circulation* [S.I.], v. 118, n. 4, p. 346-54, Jul 22 2008.
- TORUN, B.; VITERI, F. E. Influence of exercise on linear growth. *Eur J Clin Nutr* [S.I.], v. 48 Suppl 1, p. S186-9, Feb 1994.
- TOSTE, F. P.; DE MOURA, E. G.; LISBOA, P. C.; FAGUNDES, A. T.; DE OLIVEIRA, E.; PASSOS, M. C. Neonatal leptin treatment programmes leptin hypothalamic resistance and intermediary metabolic parameters in adult rats. *Br J Nutr* [S.I.], v. 95, n. 4, p. 830-7, Apr 2006.
- TREVENZOLI, I. H.; RODRIGUES, A. L.; OLIVEIRA, E.; THOLE, A. A.; CARVALHO, L.; FIGUEIREDO, M. S.; TOSTE, F. P.; NETO, J. F.; PASSOS, M. C.; LISBOA, P. C.; MOURA, E. G. Leptin treatment during lactation programs leptin synthesis, intermediate metabolism, and liver microsteatosis in adult rats. *Horm Metab Res* [S.I.], v. 42, n. 7, p. 483-90, Jun 2010.

VICENTE, L. L.; DE MOURA, E. G.; LISBOA, P. C.; MONTE ALTO COSTA, A.; AMADEU, T.; MANDARIM-DE-LACERDA, C. A.; PASSOS, M. C. Malnutrition during lactation in rats is associated with higher expression of leptin receptor in the pituitary of adult offspring. *Nutrition* [S.I.], v. 20, n. 10, p. 924-8, Oct 2004.

WHO, W. H. O.-. *Diet, nutrition and prevention of chronic diseases*. Geneva: World Health Organization - WHO, 2003.

WONG, P. C.; CHIA, M. Y.; TSOU, I. Y.; WANSAICHEONG, G. K.; TAN, B.; WANG, J. C.; TAN, J.; KIM, C. G.; BOH, G.; LIM, D. Effects of a 12-week exercise training programme on aerobic fitness, body composition, blood lipids and C-reactive protein in adolescents with obesity. *Ann Acad Med Singapore* [S.I.], v. 37, n. 4, p. 286-93, Apr 2008.

XAVIER, F. E.; DAVEL, A. P.; FUKUDA, L. E.; ROSSONI, L. V. Chronic ouabain treatment exacerbates blood pressure elevation in spontaneously hypertensive rats: the role of vascular mechanisms. *J Hypertens* [S.I.], Mar 30 2009.

ZHANG, B.; SANNAJUST, F. Diurnal rhythms of blood pressure, heart rate, and locomotor activity in adult and old male Wistar rats. *Physiol Behav* [S.I.], v. 70, n. 3-4, p. 375-80, Aug-Sep 2000.

ZOLADZ, J. A.; PILC, A.; MAJERCZAK, J.; GRANDYS, M.; ZAPART-BUKOWSKA, J.; DUDA, K. Endurance training increases plasma brain-derived neurotrophic factor concentration in young healthy men. *J Physiol Pharmacol* [S.I.], v. 59 Suppl 7, p. 119-32, Dec 2008.

ANEXOS

ANEXO A

Ofício de aprovação no CEEA da UFPE – Artigo original 1

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, 13 de fevereiro de 2009

Ofício nº 110/09

Da Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEA) da UFPE
Para: **Profª. Carol Virginia Góis Leandro**
Núcleo de Nutrição do Centro Acadêmico de Vitória
Processo nº 23076.000904 / 2009 – 01

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 sobre os leucócitos sanguíneos, medulares e esplênicos em ratos adultos desnutridos durante a gestação e lactação.”*

Concluimos 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,

Observação:
Origem dos animais: Biotério do Departamento de Nutrição;
Animal; Ratos Wistar; Machos e Fêmeas; Idade: Adultos e
filhotes do 1º ao 21º dia; Número de animais previsto no
protocolo: 42 animais.

Maria Teresa Jansen
 Profª. Maria Teresa Jansen
Presidente do CEEA

ANEXO B
Ofício de aprovação no CEEA da UFPE – Artigo original 2

Universidade Federal de Pernambuco
 Centro de Ciências Biológicas
 Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
 50870-900 / Recife - PE - Brasil
 Fone: (51) 3126-8800 / 3126-8351
 Fax: (51) 3126-8350
 www.ccb.ufpe.br



Recife, 26 de março de 2009

Ofício nº 122/09

Da Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEA) da UFPE
 Para: Prof.^a Carol Virginia Góis Leandro
 Centro Acadêmico de Vitória
 Processo nº 23078.021764/2008 -16

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 *"Estudo da programação fetal de doenças prevalentes da vida adulta: papel modulador do comportamento alimentar e da atividade física."*

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,

Maria Teresa Jensen
 Prof.^a Maria Teresa Jensen
 Presidente do CEEA
 UFPE

Observação:
 Origem dos animais: Biotério do Departamento de Nutrição;
 Animal: Ratos Wistar; Sexo: Machos; Idade: 60 dias; Número
 de animais previsto no protocolo: 40 animais.

ANEXO C

Comprovante de aprovação do Artigo 1 - Revisão Bibliográfica

 Jean Louis Peytavin [Adicionar a contatos](#)
Para iracemamelo@hotmail.com

28/10/2011
[Responder](#)

De: **Jean Louis Peytavin** (jlpeytavin@gmail.com)
Enviada: sexta-feira, 28 de outubro de 2011 05:42:29
Para: iracemamelo@hotmail.com

 Sempre mostrar conteúdo para jlpeytavin@gmail.com

 1 anexo (137,1 KB) Exibição Ativa do Hotmail

 artigo 9 ...pdf
[Baixar](#) (137,1 KB)

Baixar como zip

Iracema,

Estou enviando em anexo o PDF de seu artigo que vai ser publicado na edição v10n4 (jul/ago de 2011) de Nutrição Brasil, para aprovação.

Por favor me enviar o quanto antes sus correções, indicando cada vez a página, a coluna e a linha.

Como estamos bastante atrasados, estou esperando sua resposta para este final de semana.

Muito obrigado!

--

Jean Louis Peytavin
jeanlouis@atlanticaeditora.com.br

ANEXO D

Comprovante de submissão do Artigo Original 1

 Hormone and Metabolic Research

 Thieme

[Edit Account](#) | [Instructions & Forms](#) | [Log Out](#) | [Get Help Now](#)

SCHOLARONETM
Manuscripts

[Main Menu](#) → [Author Dashboard](#) → Submission Confirmation

You are logged in as Iracema Montenegro

Submission Confirmation

Thank you for submitting your manuscript to *Hormone and Metabolic Research*.

Manuscript ID: HMR-2012-01-0016

Title: Effects of a moderate physical training on the leptin synthesis by adipose tissue of adult rats submitted to a perinatal low-protein diet

Authors: Montenegro, Iracema
Moita, Luana
dos Reis, Flávia
Oliveira, Elaine
Lisboa, Patricia
Moura, Egberto
Manhães de Castro, Raul
Leandro, Carol

Date Submitted: 11-Jan-2012

 Print  Return to Dashboard

Concluído

ANEXO E

Comprovante de submissão do Artigo Original 2

[RBME] Agradecimento pela Submissão Voltar para mensagens | ⬇ ⬆ ⬇

✉ **Fernanda Colmatti** Adicionar a contatos

Para Iracema Hermes Pires-de-Mélo Montenegro

09/01/2012

Responder ⌵

Dr. (a) Iracema Hermes Pires-de-Mélo Montenegro,

Agradecemos a submissão do seu manuscrito "Efeito da atividade física voluntária sobre o desenvolvimento somático, consumo alimentar e parâmetros bioquímicos de ratos do desmame até os 90 dias de idade." para Revista Brasileira de Medicina do Esporte. Através da interface de administração do sistema, utilizado para a submissão, será possível acompanhar o progresso do documento dentro do processo editorial, bastando logar no sistema localizado em:

URL do Manuscrito:
<http://submission.scielo.br/index.php/rbme/author/submission/78793>
Login: iracemamontenegro

Em caso de dúvidas, envie suas questões para este email. Agradecemos mais uma vez considerar nossa revista como meio de transmitir ao público seu trabalho.

Fernanda Colmatti
Revista Brasileira de Medicina do Esporte
Fernanda Colmatti/Arthur T. Assis
Atha Comunicação e Editora
Tel/Fax:55-11-5579-5308
Revista Brasileira de Medicina do Esporte