

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS**

EFEITOS DE DIFERENTES INTERVENÇÕES NUTRICIONAIS E DO  
EXERCÍCIO FÍSICO SOBRE A REGULAÇÃO HORMONAL DA INGESTÃO  
ALIMENTAR E DO METABOLISMO LIPÍDICO EM RATOS

**Nadia Carla Cheik**

**São Carlos - SP  
2005**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS**

EFEITOS DE DIFERENTES INTERVENÇÕES NUTRICIONAIS E DO EXERCÍCIO FÍSICO SOBRE A REGULAÇÃO HORMONAL DA INGESTÃO ALIMENTAR E DO METABOLISMO LIPÍDICO EM RATOS

**Nadia Carla Cheik**

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. ANA DÂMASO

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal de São Carlos para a obtenção do Título de Doutora em Ciências Fisiológicas

**São Carlos - SP  
2005**

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da  
Biblioteca Comunitária/UFSCar**

C514ed

Cheik, Nadia Carla.

Efeitos de diferentes intervenções nutricionais e do exercício físico sobre a regulação hormonal da ingestão alimentar e o metabolismo lipídico em ratos / Nadia Carla Cheik. -- São Carlos : UFSCar, 2006.

132 p.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2005.

1. Medicina experimental - rato. 2. Obesidade. 3. Exercício físico. 4. Metabolismo lipídico. 5. Leptina. I. Título.

CDD: 619.93 (20<sup>a</sup>)

“Aprender é a única coisa da qual a mente humana nunca se cansa, nunca tem medo e jamais se arrepende.”

Leonardo da Vinci

“Em ciência a autoridade de um milhar não é superior ao humilde raciocínio de uma só pessoa.”

Galileu Galilei

## DEDICATÓRIA

Dedico esta tese a *DEUS*, o criador dos céus, da terra e tudo o que neles há.

E a toda minha *Família*, especialmente aos meus amados pais e irmãos.

À profa. Dra. Ana Dâmaso, pela oportunidade, orientação e pela amizade solidificada ao longo desses anos.

Ao prof. Dr. Marco Túlio de Mello, pelo incentivo, confiança, amizade e apoio indispensável.

## LISTA DE TABELAS

<b>TABELA 1</b> – Evolução da massa corporal (%) e ganho de massa corporal (g) em animais sedentários e treinados, alimentados com diferentes dietas. Os valores estão apresentados como média e erro padrão da média (n = 8).....	55
<b>TABELA 2</b> - Ingestão alimentar e calórica (gramas e Kcal) e eficiência alimentar em animais sedentários e treinados alimentados com diferentes dietas. Os valores estão apresentados como média e erro padrão da média (n=8).....	62
<b>TABELA 3</b> - Peso absoluto dos tecidos (gramas) em animais sedentários e treinados alimentados com diferentes dietas. Os valores estão apresentados como média e erro padrão da média (n=8). .....	64
<b>TABELA 4</b> - Peso relativo dos tecidos (gramas/100g de massa corporal) em animais sedentários e treinados alimentados com diferentes dietas. Os valores estão apresentados como média e erro padrão da média (n = 8) .....	65
<b>TABELA 5</b> - Glicogênio muscular e hepático ( $\mu$ mols de glicosil-glicose/g) e glicose plasmática (mg/dl) em animais sedentários e treinados alimentados com diferentes dietas. Os valores estão apresentados como média e erro padrão da média (n = 8).....	67
<b>TABELA 6</b> - Frações lipídicas (triglicerídeos, colesterol total e HDL-colesterol) em animais sedentários e treinados alimentados com diferentes dietas. Os valores estão apresentados como média e erro padrão da média (n=8) .....	68
<b>TABELA 7</b> - Medida da área e diâmetro dos adipócitos ( $\mu$ m) dos tecidos adiposos retroperitoneal (RET) e epididimal (EPI), em animais sedentários e treinados alimentados com diferentes dietas. Os valores estão apresentados como média e erro padrão da média (n=8) .....	69
<b>TABELA 8</b> - Taxa de lipogênese “ <i>in vivo</i> ” dos tecidos ( $\mu$ mol de $^3\text{H}_2\text{O}$ incorporada em lipídios/g de tecido) RET, EPI, TAM, FIG e GAST em animais sedentários e treinados alimentados com diferentes dietas. Os valores estão apresentados como média e erro padrão da média (n=8)72	72
<b>TABELA 9</b> - Taxa de lipólise “ <i>in vitro</i> ” ( $\mu$ mol de glicerol liberado/ hora/ 100 mg de tecido) dos tecidos RET e EPI, estimulados ou não com norepinefrina (NOR), em animais sedentários e treinados alimentados com diferentes dietas. Os valores estão apresentados como média e erro padrão da média (n=8).....	73
<b>TABELA 10</b> - Níveis plasmáticos de insulina, leptina e grelina em animais sedentários e treinados alimentados com diferentes dietas. Os valores estão apresentados como média e erro padrão da média (n=8).....	75

## LISTA DE FIGURAS

<b>FIGURA 1-</b> Comparação entre as diferentes dietas no ganho de massa corporal semanal (g) de todos os grupos sedentários .....	56
<b>FIGURA 2-</b> Comparação do ganho de massa corporal semanal (g), nos animais sedentários e treinados, alimentados com dieta padrão.....	56
<b>FIGURA 3-</b> Comparação do ganho de massa corporal semanal (g), nos animais sedentários e treinados, alimentados com dieta hiperlipídica.....	57
<b>FIGURA 4-</b> Comparação do ganho de massa corporal semanal (g), nos animais sedentários e treinados, alimentados com dieta cíclica.....	57
<b>FIGURA 5-</b> Comparação entre as diferentes dietas na ingestão alimentar semanal em gramas (g) de todos os grupos sedentários .....	59
<b>FIGURA 6-</b> Efeito do exercício sobre a ingestão alimentar semanal em gramas comparando animais que ingeriram dieta padrão .....	60
<b>FIGURA 7-</b> Efeito do exercício sobre a ingestão alimentar semanal em gramas comparando animais que ingeriram dieta hiperlipídica .....	60
<b>FIGURA 8-</b> Efeito do exercício sobre a ingestão alimentar semanal em gramas comparando os animais que ingeriram dieta cíclica .....	61
<b>FIGURA 9-</b> Adipócitos do tecido retroperitoneal (RET) de animais sedentários e treinados, alimentados com diferentes dietas .....	70
<b>FIGURA 10-</b> Adipócitos do tecido epididimal (EPI) de animais sedentários e treinados, alimentados com diferentes dietas .....	70
<b>FIGURA 11-</b> Efeito da dieta na concentração plasmática de insulina e leptina .....	76
<b>FIGURA 12-</b> Efeito da dieta na concentração plasmática de grelina.....	76
<b>FIGURA 13-</b> Efeito do treinamento na concentração plasmática de insulina .....	77

## LISTA DE ABREVIACES

**ACTH**= Hormônio adrenocorticotrófico  
**AGL** = cidos graxos livres  
**AGRP**= Proteínas relacionadas ao aguti  
**ATP**= Adenosina trifosfato  
**CART**= Cocaine-anphetamin-regulated transcript  
**CPT-I**= Carnitina palmitoil transferase-I (CPT-I)  
**CT** = Colesterol total  
**DVC**= Doenças cardiovasculares  
**EPI** = Tecido adiposo branco epididimal  
**FIG** = Fígado  
**GAST**= Músculo gastrocnêmio  
**GH**= Hormônio do crescimento  
**HDL** = Lipoproteína de alta densidade  
**IBGE** = Instituto brasileiro de geografia e estatística  
**IL-6**= Interleucina 6  
**IMC** = ndice de massa corpórea (Kg/m<sup>2</sup>)  
**Kcal** = Kilocalorias  
**Kg** = Quilograma  
**KOH**= Hidróxido de potássio  
**LCAT** = Enzima lecitina colesterol acil-transferase  
**LDL** = Lipoproteína de baixa densidade  
**LH** = Lipase hepática  
**LHS**= Lipase hormônio sensível  
**LPL** = Lipase lipoprotéica  
**M**= Molar  
**mg/dl** = Miligrama por decilitro  
**NIDDM**= diabetes mellitus insulino não dependente  
**nm** = Nanmetro



**NPY**= Neuropeptídeo Y

**OMS**= Organização mundial de saúde

**PAI-1**= Inibidor 1 do ativador de plasminogênio

**POMC**= Pró-opiomelanocortina

**QM**= Quilmicrons

**RET** = Tecido adiposo branco retroperitoneal

**RET**= Tecido adiposo branco retroperitoneal

**RNA**= Ácido ribonucléico

**SC**= Grupo sedentário e alimentado com dieta cíclica

**SH**= Grupo sedentário e alimentado com dieta hiperlipídica

**SNC**= Sistema nervoso central

**SP**= Grupo sedentário e alimentado com dieta padrão

**T<sub>3</sub>**= Triiodotirosina

**T<sub>4</sub>**= Tetradotirosina

**TAM**= Tecido adiposo marrom

**TBM**= Taxa metabólica basal

**TC**= Grupo treinado e alimentado com dieta cíclica

**TG** = Triglicerídeos

**TH**= Grupo treinado e alimentado com dieta hiperlipídica

**TNF- $\alpha$** = Fator de necrose tumoral  $\alpha$

**TP**= Grupo treinado e alimentado com dieta padrão

**VET**= Valor energético total

**VLDL** = Lipoproteína de muito baixa densidade

**VO<sub>2</sub> max.** = Consumo máximo de oxigênio

**$\mu\text{m}$** = Micrômetro

## RESUMO

A prevalência mundial da obesidade está aumentando rapidamente, indicando que aspectos ambientais e de comportamento possuem importância na etiologia desta doença. Dentre as influências ambientais, destaca-se a alta ingestão lipídica e a hipoatividade, assim melhor compreensão dos mecanismos que controlam a ingestão alimentar e o peso corporal é primordial à saúde pública. O tecido adiposo é regulado por vários hormônios e neuropeptídeos. Dois destes, a leptina e a grelina, são hormônios que têm ações antagônicas na regulação do apetite por modular neurônios hipotalâmicos. Esta pesquisa objetivou determinar os efeitos da ingestão cíclica e contínua de dieta hiperlipídica, bem como, verificar o efeito do exercício em ratos com modificação dietética. Para isto, os animais foram divididos em seis diferentes grupos experimentais: sedentários alimentados com dieta padrão (SP), treinados alimentados com dieta padrão (TP), sedentários alimentados com dieta hiperlipídica (SH), treinados alimentados com dieta hiperlipídica (TH), sedentários alimentados com dieta cíclica (SC) e treinados alimentados com dieta cíclica (TC). Os resultados mostraram que os dois regimes de dieta hiperlipídica aumentaram o peso do RET e EPI, promoveram hiperinsulinemia, hiperleptinemia e significativa diminuição da lipogênese do RET e EPI, redução percentual nos níveis de grelina, não promovendo alteração significativa da lipólise nesses grupos. Quanto ao efeito do exercício, os resultados demonstraram diminuição do ganho de peso corporal, redução da adiposidade, e diminuição significativa dos níveis de grelina em TP e normalização da concentração plasmática de leptina e insulina nos grupos alimentados com dieta hiperlipídica, promovendo também aumento da lipólise em todos grupos, exceto o alimentado com dieta cíclica. Nossos resultados sugerem que tanto a dieta, quanto o exercício, causam alteração do metabolismo lipídico e alteram os níveis de hormônios anorexígenos e orexígenos.

## ABSTRACT

The prevalence of obesity is increasing worldwide, indicating that environmental and behavioral aspects play an important causal role. Among the environmental influences, the percentage of fat energy in everyday diet and the lack of physical activity are two important factors, so the mechanisms that control food intake and body weight are essential in public health. The adipose tissue is regulated by several hormones and neuropeptides. Two of these, the circulating peptide hormones leptin and ghrelin, have actions that include reciprocal effects on appetite-regulating neurons in the hypothalamus. This study aimed to observe whether the effects of continuous feeding with a palatable hyperlipidic diet and cycling this diet with a chow one and also extends to design the effects of exercise on these diet regimens. The animals (rats) were assigned to six different experimental groups: sedentary rats fed with chow diet (SP); exercised rats fed with chow diet (TP); sedentary rats fed with a palatable hyperlipidic diet (SH); exercised rats fed with a palatable hyperlipidic diet (TH); sedentary rats fed with food cycles, alternating weekly the chow diet with hyperlipidic one (SC); and exercised rats fed with food cycles (TC). The data showed that the two hyperlipidic diet regimens significantly increased RET and EPI weights, area and diameter of adiposity cells, promoted hyperinsulinemia, hyperleptinemia and decreased significantly lipogenesis rate in RET and EPI, showed also percentual reduction in ghrelin levels, but didn't affect the lipolysis rate. In addition, the present investigation showed that chronic exercise decreased body weight gain and adiposity and attenuated insulin, leptin levels in both high-fat feeding regimens, also reduction in ghrelin levels in TP and increased the lipolysis rate under all regimens, excepting in food cycle treatment. Results suggest that diet and exercise affected serum levels anorexigenic and orexigenic hormones and the lipid metabolism.

# SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b>	1
<b>2. REVISÃO DA LITERATURA</b>	4
2.1. Etiologia e Epidemiologia da Obesidade	4
2.2. Obesidade e Síndrome Metabólica	8
2.3. Obesidade e Desenvolvimento de Resistência à Insulina	10
2.4. Obesidade e Doenças Cardiovasculares	12
2.5. Aspectos Nutricionais Relacionados ao Desenvolvimento da Obesidade	15
2.6. Contribuição do Exercício na Prevenção e Controle da Obesidade	21
2.7. Obesidade e Regulação Hormonal da Ingestão Alimentar	27
<b>3. OBJETIVOS</b>	36
3.1. Objetivo Geral	36
3.2. Objetivos Específicos	37
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS</b>	39
4.1. Animais e Condições Experimentais	39
4.2. Desenho Experimental	40
4.3. Composição das Dietas	40
4.3.1. Composição e Oferta da Dieta Padrão	40
4.3.2. Composição e Oferta da Dieta Hiperlipídica	41
4.4. Protocolo de Treinamento	42
4.5. Controle da Massa Corporal e Consumo Alimentar	42
4.6. Experimentos e Coleta de Amostras	43
4.7. Análises Bioquímicas e Morfométricas	43
4.7.1. Medida de Área e Diâmetro dos Adipócitos	43
4.7.2. Glicogênio Muscular e Hepático	44
4.7.3. Determinação da Taxa de Lipólise	46
4.7.4. Determinação da Taxa de Lipogênese	46
4.8. Análises Bioquímicas do Plasma	48
4.8.1. Glicose	48
4.8.2. Triglicérides	49
4.8.3. Colesterol Total	49
4.8.4. Fração HDL-colesterol	50
4.8.5. Insulina	51
4.8.6. Leptina	51
4.8.7. Grelina	52
4.9. Tratamento Estatístico dos Dados	52
<b>5. RESULTADOS</b>	53
5.1. Evolução da Massa Corporal	53
5.2. Ganho de Massa Corporal	53
5.3. Ingestão Alimentar	58

5.4 Eficiência Alimentar-----	61
5.5 Peso Absoluto dos Tecidos-----	63
5.6 Peso Relativo dos Tecidos-----	65
5.7. Glicose Plasmática e Glicogênio Muscular e Hepático-----	67
5.8. Frações Lipídicas-----	68
5.9. Área e Diâmetro dos Adipócitos-----	69
5.10. Taxa de Lipogênese-----	74
5.11. Taxa de lipólise-----	76
5.12. Concentração Plasmática de Leptina, Grelina e Insulina-----	78
<b>6. DISCUSSÃO-----</b>	<b>79</b>
<b>7. CONCLUSÃO-----</b>	<b>104</b>
<b>8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS-----</b>	<b>108</b>

## **1. INTRODUÇÃO**

Nas últimas décadas temos observado nas nações em desenvolvimento, um fenômeno denominado inversão epidemiológica, uma vez que, as doenças infecto-contagiosas, que antes eram o principal problema de saúde pública, agora foram superadas por um grupo de enfermidades denominadas crônico-degenerativas. De tal forma que, atualmente, a obesidade é considerada a principal causa de morte evitável, ao lado do tabaco (ABDUL-RAHIM et al., 2001; VIUNISKI, 2003).

Apesar da contribuição genética, os principais fatores relacionados a esta epidemia mundial, são justamente a hipoatividade física e o hábito alimentar inadequado. Verifica-se que os registros de padrões alimentares inadequados aumentaram de forma alarmante, associado a isto, observa-se que, a elevada incidência de dietas alimentares estão associadas ao paradoxo aumento na prevalência da obesidade. Além disto, resultante dos avanços tecnológicos, o homem da sociedade moderna se tornou extremamente hipoativo, sendo esses parâmetros ambientais e

comportamentais, de fundamental importância na etiologia da obesidade (BOUCHARD & BLAIR, 1999; PÉRUSSE & BOUCHARD, 2000).

Os altos índices de obesidade evidenciados em diversos países têm mobilizado cientistas de todo o mundo. Neste sentido, o avanço do estudo da biologia molecular tem identificado o tecido adiposo, não apenas como um reservatório de energia, mas também como um tecido multifuncional, exercendo várias funções endócrinas e auto/parácrinas, pela liberação de fatores como o inibidor do ativador de plasminogênio (PAI-1), hormônios esteroidais, angiotensinogênio, adiponectina, resistina, além de algumas citocinas como fator de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ) e interleucina 6 (IL-6). Todos estes fatores estão, em alguma extensão, relacionados aos problemas clínicos associados à obesidade (HAUNER, 1999).

Novas pesquisas vêm sendo desenvolvidas com o intuito de investigar os principais mecanismos moleculares e hormonais e a inter-relação destes com o sistema nervoso central, visando compreender a regulação da ingestão e gasto energético. Dentre estes novos fatores descobertos, a grelina e a leptina vêm recebendo grande atenção da comunidade científica, devido às importantes influências que exercem no controle neuroendócrino da alimentação e no balanço energético (OTTO et al., 2001; TSCHOP & MORRISON, 2001).

Revisando a literatura, observa-se que poucos estudos científicos foram realizados até o presente momento acerca deste assunto,

justificando a realização deste estudo experimental, com avaliação de parâmetros metabólicos, hormonais e comportamentais, considerando-se os efeitos do exercício físico e de modificações na dieta, com a finalidade de aprofundamento científico e estabelecimento de novos parâmetros preventivos e terapêuticos na obesidade.



## **2. REVISÃO DA LITERATURA**

### **2.1. Etiologia e Epidemiologia da Obesidade**

Ao longo da história da civilização, a obesidade já foi vista como sinônimo de beleza, bem estar físico, riqueza e poder. Em épocas de trabalho intenso e escassez alimentar, assegurar uma reserva energética era a principal preocupação nutricional. Hoje, porém, à medida que a indústria alimentícia desenvolve novos métodos de cultivo, processamento e preparação de alimentos, com aprimoramento na qualidade de vida ocorre, na contra mão da história, o consternante aumento em âmbito mundial da patologia obesidade e de suas co-morbidades (WILLIAMS, 2002; VIUNISKI, 2003).

A obesidade foi considerada pela Organização Mundial de Saúde (OMS), a partir de 1985, uma doença caracterizada pelo excesso de tecido adiposo. Atualmente, esta patologia constitui um sério problema de saúde pública, pois alcança proporções epidemiológicas e além disto, a susceptibilidade ao desenvolvimento de outras doenças crônicas

degenerativas está aumentada e a qualidade de vida diminuída (BJORNTORP,1987; REYBROUCK et al., 1987; SEGAL & Pi-SUNYER, 1989; EVANOCHKO & POHOST,1994).

Verificamos que a incidência dos casos de obesidade é alarmante, Ferrannini *et al.* (1996) relataram que na Inglaterra, 53% dos homens e 44% das mulheres apresentavam sobrepeso ou obesidade. Em 1998, nos Estados Unidos, 50% da população adulta já estava acima do peso (HOFFMANN, 1998). Em países como a Índia e China o pequeno aumento de 1% na prevalência de obesidade gera 20 milhões de novos casos. Por outro lado, no Japão, este número é extremamente menor (16%). Isto, provavelmente, ocorre devido às diferenças no padrão alimentar destes países (HOFFMANN 1995).

No Brasil referente ao período de 1973-74, 2.4 % dos homens e 7.0 % das mulheres eram obesos (LOTUFO, 2000). Já na década de 80 e 90, um estudo epidemiológico realizado por Monteiro & Mondini (2000), sobre a mudança na composição corporal de indivíduos residentes nas áreas metropolitanas do Brasil, demonstrou que a prevalência da obesidade em adultos (Índice de Massa Corporal - IMC  $\geq$  30 kg/m<sup>2</sup>) era de 7.0% em homens e de 12.4% em mulheres, somando-se os indivíduos com sobrepeso e obesidade (IMC  $\geq$  25 kg/ m<sup>2</sup>), a prevalência seria de 38.5% para homens e de 39.0% para mulheres.

Recente pesquisa feita pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) em conjunto com o Ministério da Saúde, realizada em 48.470 domicílios de áreas urbanas e rurais de todo o país, confirmou o fato de que a incidência de sobrepeso e obesidade ao longo das últimas três décadas aumentou. Hoje o país tem cerca de 38,6 milhões de pessoas com sobrepeso e ou obesidade, o equivalente a 40,6% de sua população adulta. Deste total, 10,5 milhões são obesos.

O relatório apontou que o problema de excesso de peso não é mais exclusividade de pessoas com alta renda e que há mais obesos que desnutridos na população de baixa renda. Entre os 20% mais pobres do país, 27% dos homens estão com peso acima do adequado e 9,5% com falta de peso. Já entre as mulheres de baixa renda, 38,2% estão com excesso de peso e 6,6% com peso inferior ao recomendado. Outra constatação da pesquisa são as diferenças dos gastos com alimentação entre as pessoas de diferentes rendas. As famílias mais ricas (com renda mensal acima de R\$ 4 mil) gastam R\$ 662,72, mais que o quádruplo do gasto das famílias mais pobres (com renda mensal de até R\$ 400).

Múltiplos fatores podem estar relacionados ao rápido desenvolvimento da obesidade, dentre esses podemos citar: alterações genéticas, metabólicas e endócrinas, hábitos alimentares inadequados, fatores sociais, psicológicos e culturais (BERENSON et al.,1998). Há muitas evidências de que a genética contribui substancialmente para a regulação do peso corporal. Estudos de correlação do índice de massa corporal (IMC) em

gêmeos monozigóticos, gêmeos dizigóticos, irmãos biológicos e adotivos sugerem que a herança da obesidade é de 50-80% (BARSH et al., 2000). Mesmo assim, acredita-se que a dieta ocidental e o estilo de vida sedentário contribuam para o desenvolvimento da obesidade em indivíduos geneticamente predispostos (SPIEGELMAN & FLIER, 2001).

Segundo Viuniski (2003) se ambos os progenitores forem obesos, existe em torno de 75% a 80% de chance dos filhos serem obesos. Se apenas um dos progenitores for obeso, a chance diminui para 50%. Caso nenhum deles tenham sobre peso e/ou obesidade, as chances serão menores que 10%. O mesmo autor salienta que a mãe biológica possui uma influência maior que o pai, isso decorre tanto pela influência educacional quanto pelo aspecto genético. No entanto, o fato do indivíduo ter forte influência genética para o desenvolvimento da obesidade, não indica que esta doença seja inevitável e todos os esforços devem ser realizados no sentido de promover adequação do peso corporal (WARDLE, 1996).

Como exposto, uma complexa mistura de fatores ambientais e genéticos acabam por influenciar o peso de um indivíduo. Se os estudos de gêmeos têm enfatizado o aspecto genético da obesidade (VAN DEN BREE, 1999), os aumentos recentes na incidência mundial da obesidade em nível verdadeiramente epidêmicos têm apontado para fortes influências ambientais no ganho de peso. A maioria das pesquisas reportam que a contribuição das mudanças nos hábitos alimentares e no estilo de vida são, sem dúvida

alguma, os principais fatores relacionados ao “boom” da obesidade (BOUCHARD, 1993).

## **2.2. Obesidade e Síndrome Metabólica**

A obesidade rotineiramente está associada a alterações metabólicas múltiplas que contribuem para doenças cardiovasculares (coronariopatias, aterosclerose, dislipidemias, hipertensão arterial, trombose venosa), diabetes mellitus insulino não dependente, afecções pulmonares, renais, biliares e certos tipos de neoplasias (principalmente em mama, útero, próstata e cólon), dentre outras. Como consequência desta síndrome metabólica, segundo relatos na literatura, esta condição clínica caminha para ser a mais importante causa de doença crônica do mundo (MAHONEY et al.,1996; BERENSON et al.,1998; GRUNDY, 1998; DAMIANI, 2000).

Segundo estudo realizado por Gus et al. (1998), a obesidade é o principal fator determinante da síndrome metabólica que tem como características principais, aumento da pressão arterial, intolerância à glicose e dislipidemias. Estas se apresentam correlacionadas e aumentam o fator de risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares.

Apesar disto, ainda há muitas controvérsias sobre os constituintes da síndrome metabólica. Recente estudo (third report of the national cholesterol education program, 2001) estabeleceu que, para se ter o diagnóstico de síndrome metabólica deve haver a presença de três ou mais

fatores de risco: Glicemia de jejum  $\geq 110$  mg/dl, pressão arterial elevada ( $\geq 130/85$  mmHg); níveis plasmáticos elevados de triglicérides ( $\geq 150$ mg/dl); níveis plasmáticos reduzidos de lipoproteína de alta densidade - HDL ( $< 40$  mg/dl para homens e  $50$  mg/dl para mulheres); obesidade central (circunferência abdominal  $>102$  e  $88$  cm para homens e mulheres, respectivamente).

De acordo com a OMS a síndrome metabólica pode ser caracterizada quando ocorre tolerância diminuída à glicose, ou diabetes e/ou resistência à insulina, associados a dois ou mais fatores: hipertensão arterial sistêmica, dislipidemia, obesidade central e albuminúria (DESPRÉS et al., 1990).

Embora todos os fenótipos da obesidade estejam associados ao aumento de risco para a saúde, pessoas com obesidade central ou abdominal estão mais susceptíveis ao desenvolvimento de desordens metabólicas (GUTIN *et al.* 2002).

Estudos relatam que a obesidade visceral possui maior atividade lipolítica, conseqüentemente ocorre aumento da quantidade de ácidos graxos livres (AGL) na circulação portal, e isto está intimamente relacionada ao desenvolvimento de inúmeras desordens metabólicas, incluindo-se intolerância à glicose, complicações cardiovasculares e dislipidemias, uma vez que ocorre elevação na concentração de triglicérides (TG) plasmáticos, colesterol total, lipoproteínas de baixa (LDL) e muito baixa

densidade (VLDL), e redução das lipoproteínas de alta densidade (HDL) (KANAI *et al.*, 1996; MATSUZAWA *et al.*, 1999; CHEIK *et al.*, 2001).

### **2.3. Obesidade e Desenvolvimento de Resistência à Insulina**

Sabe-se que mais de 80% dos casos de diabetes mellitus insulino não dependente (NIDDM) são atribuídos à obesidade, requerendo portanto, intervenção associada à dieta, exercícios físicos e medicamentos (CHACRA & DIB, 2001). Desta forma, torna-se importante, descrevermos os aspectos que ampliam o entendimento sobre a inter-relação obesidade e diabetes.

O tecido muscular utiliza aproximadamente 2/3 da insulina, enquanto o tecido adiposo menos que 10%. É de se esperar que a causa principal da resistência à ação da insulina esteja relacionada aos músculos, no entanto, os adipócitos produzem adipocitocinas responsáveis pelo desenvolvimento de NIDDM (SMITH, 1999).

As células adiposas sintetizam e secretam algumas substâncias biologicamente ativas como: fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) e interleucina-6 (IL-6) (MOHAMED-ALI *et al.*, 1997). Estas citocinas podem atuar como fortes antagonistas à ação da insulina, valendo salientar que na obesidade encontra-se elevada expressão de TNF $\alpha$  (HOTAMISLIGIL, *et al.*, 1995) e de IL-6 (MOHAMED-ALI *et al.*, 1997).

Outra adipocitocina que possui relação com o NIDDM é a adiponectina, proteína composta por 247 aminoácidos, que possui efeito

antidiabetogênico; quando administrada em roedores, observa-se aumento da fosforilação do domínio tirosina quinase, ligado ao receptor de insulina, promovendo melhora na sensibilidade à insulina, estes resultados têm sido estudados em humanos (YAMAUCHI et al., 2001; STEFAN et al., 2002). Infelizmente, em obesos a expressão e secreção deste hormônio está diminuída, o que pode estar relacionado aos elevados níveis de TNF- $\alpha$  (KAPPES & LOFFLER, 2000).

Way et al., 2001, demonstraram que os adipócitos de roedores, produzem uma outra adipocitocina denominada resistina, este hormônio promove resistência à ação da insulina. Nesta mesma pesquisa os cientistas demonstraram que em ratos obesos que apresentavam defeito na expressão da resistina, foi observada uma resposta antidiabetogênica.

Um importante aspecto que deve ser enfatizado é o fato de que o NIDDM está mais diretamente relacionado com a localização do que com o total de gordura corporal (MATSUZAWA et al., 1999). Prova disto, é que o índice cintura/quadril está fortemente associado ao desenvolvimento de resistência à insulina. A exposição dos hepatócitos a uma grande quantidade de ácidos graxos livres diminui o número de receptores de insulina, reduzindo as captações hepáticas deste hormônio, desenvolvendo hiperinsulinemia sistêmica. Outro fator que agrava ainda mais este quadro é o fato de que, o fluxo direto de ácidos graxos na veia porta para o fígado modula a sensibilidade à insulina nesse órgão, aumentando a gliconeogênese (BERGMAN, 1997; SHEEHGAN, 2000).



Além disto, o excesso de AGL também pode provocar elevada secreção de insulina pelo pâncreas, provocando a lipotoxicidade, acarretando em falência das células  $\beta$  das ilhotas de Langherans, diminuindo, em longo prazo, a secreção de insulina (GIRARD, 2000).

No entanto, o índice cintura/quadril, bem como a circunferência abdominal, reflete a obesidade localizada na porção central do corpo podendo ser ainda dividida em obesidade subcutânea e obesidade visceral. Utilizando a tomografia computadorizada, resultados de pesquisas evidenciaram que a obesidade visceral possui correlação direta com a resistência à insulina, pois produz maior quantidade de adipocitocinas (KOBATAKE et al., 1989; MATSUZAWA et al., 1999), esta mesma desordem metabólica foi observada em indivíduos eutróficos que apresentaram um alto índice de gordura visceral (MATSUZAWA et al., 1999).

Em modelos animais foi demonstrado que a resistência à insulina também pode ser causada pela deficiência na produção de GLUT4 nos adipócitos, o que ocasiona aumento dos níveis sanguíneos de glicose e insulina (DALE, 1998).

#### ***2.4. Obesidade e Doenças Cardiovasculares***

Sabe-se que o aumento do peso corporal é o terceiro fator determinante para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares (DCV), precedido apenas pelas dislipidemias, e pela idade, sendo interessante

registrar que o aumento em 10% no peso corporal está associado ao aumento de 13% no índice de ocorrência de doenças cardiovasculares em homens e 8% em mulheres (FERRANNINI et al., 1996).

A gordura visceral também está fortemente correlacionada com o desenvolvimento de DCV, pois a exposição hepática a uma grande quantidade de ácidos graxos livres aumenta a síntese das lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL). Uma vez liberadas na circulação, são hidrolisadas pela lipase lipoprotéica (LPL) que as converte em lipoproteína de baixa densidade (LDL) e aumenta a trigliceridemia (FRAYN et al., 1994).

Segundo alguns novos achados, os problemas cardiovasculares correlacionados à obesidade podem ser resultantes da elevada produção do fator inibidor do ativador de plasminogênio - Tipo 1 (PAI-1) pelos adipócitos. Quanto maior a hipertrofia dos adipócitos, maior é a expressão de RNAm para a PAI-1, além disto, tanto o  $TNF\alpha$ , quanto a insulina atuam de forma sinérgica aumentando a produção de PAI-1 (ERIKSSON et al., 1998).

Desta forma, em indivíduos obesos os processos fibrinolíticos estarão diminuídos, elevando o risco de desenvolvimento de aterosclerose e trombose arterial e venosa (SHIMOMURA et al., 1996; JUHAN-VAGUE & ALESSI, 1997; SAKAMOTO, 1999).

Estudos revelaram que a alta incidência de problemas cardiovasculares, presente nos quadros de obesidade, pode estar

relacionada, não só à elevação da produção de PAI-1 pelos adipócitos, como também ao aumento na produção de angiotensinogênio.

O sistema renina-angiotensina desempenha importante função na regulação da pressão arterial, tanto por afetar a função renal quanto por promover vasoconstrição. Em 1997, Safonova et al., demonstraram que os adipócitos são importantes produtores de angiotensinogênio e que a hipertensão arterial, em obesos, pode ser causada pelo aumento na secreção de angiotensinogênio, a partir dos depósitos dos tecidos adiposos aumentados. Além disso, o produto da ativação do angiotensinogênio, a angiotensina II, estimula a produção e a liberação de prostaglandinas, as quais agem como potentes sinalizadores na transformação de pré-adipócitos em adipócitos (DARIMONT et al., 1994).

Além disto, recente pesquisa japonesa demonstrou que na obesidade, no diabetes mellitus e na coronariopatia, a quantidade de adiponectina no sangue está diminuída, elevando o risco de desenvolvimento da aterosclerose, pois a adiponectina pode prevenir a adesão dos monócitos às células endoteliais (ARITA et al., 1999). Esta citocina também diminui o RNAm para a enzima lipase lipoproteica nos macrófagos e para o macrophage scavenger receptor, dificultando a transformação de macrófagos em células de Foam (OUCHI et al. 1999, 2001).

## ***2.5. Aspectos Nutricionais Relacionados ao Desenvolvimento da Obesidade***

As significativas mudanças nos hábitos alimentares, durante este século, têm sido marcadas pelo aumento do conteúdo lipídico na dieta, sendo este um fator primordial na ascensão da obesidade e de suas comorbidades. Nos países ocidentais, é muito freqüente a ingestão inapropriada de lipídeos, tendo sido demonstrado por Connor et al. (1996), que até 40% da ingestão de alimentos diária é proveniente de fonte lipídica.

A dieta hiperlipídica permite o superconsumo de energia, pois o lipídio é o macronutriente de maior densidade energética, além de apresentar baixo poder de saciedade a longo prazo e excelente palatibilidade. Deste modo, estudos epidemiológicos indicam que a alta prevalência da obesidade está freqüentemente associada ao aumento no consumo de alimentos industrializados e, conseqüentemente, hiperlipídicos (TREMBLAY, 1995; BRAY & POPKIN, 1998).

Estudos metabólicos, com alteração do conteúdo lipídico da dieta, tem demonstrado redução no gasto energético em um período de 24 horas, acarretando maior deposição de lipídios. Desde modo, a taxa de oxidação de carboidratos e lipídios na dieta pode influenciar a composição corporal, pois medindo-se o gasto energético diário, observou-se que o uso de carboidratos como principal macronutriente da dieta, quando comparado

aos lipídios, proporcionou um aumento de 9 a 12% no gasto energético (FLATT & TREMBLAY, 1998).

De acordo com recente pesquisa realizada pelo IBGE (2003), como consequência de novos e piores hábitos alimentares, os brasileiros ingeriram mais itens industrializados e processados contendo elevado nível de gordura e açúcar. Além disso, o consumo de frutas, legumes e hortaliças permaneceu muito baixo e inferior às recomendações da Organização Mundial de Saúde.

Como o presente estudo verificou a influência da continuidade ou alternância, da dieta hiperlipídica no metabolismo e regulação da ingestão alimentar, maior ênfase será dada a este macronutriente.

Os lipídeos são necessários em quantidades de 20 a 30% do valor energético total (VET). Os triglicerídeos perfazem 90 a 98% dos lipídeos ingeridos na dieta e o tipo de ácido graxo presente nestes triglicerídeos é o que irá influenciar o metabolismo lipídico no organismo (STONE, 1990).

Na sociedade moderna ocidental, observa-se aumento acentuado na ingestão de ácidos graxos saturados e da gordura trans ou hidrogenada. Ambas possuem inúmeras consequências metabólicas, a primeira eleva a concentração de colesterol total e de LDL pela supressão na atividade do receptor hepático da LDL (STONE, 1990; TRUSWELL, 1995), a segunda, além destes fatores, diminui a concentração de HDL agravando ainda mais a epidemiologia das doenças cardiovasculares (BUCK et al.,

1989; GUPTA et al., 1993; CALDER et al. 1999). Além disso, como previamente reportado, sugere-se que ácidos graxos livres em excesso possam ocasionar resistência à ação da insulina (CHRISTIE et al., 1996).

A elevação do conteúdo lipídico das dietas pode promover aumento na quantidade de quilomícrons (QM) e VLDL, disponibilizando maior quantidade de AGL e triglicerídeos para serem armazenados e, subseqüentemente, maior quantidade de LDL. Sendo assim, hipertrigliceridemia é comumente encontrada em pacientes portadores de NIDDM, apresentando proeminente papel na alta incidência de doenças cardiovasculares em indivíduos obesos e diabéticos (HARDMAN, 1999).

Agravando ainda mais esta situação, a oxidação lipídica e a taxa metabólica basal (TMB) reduzem a partir dos 30 anos de idade. Portanto, se não ocorrer diminuição na ingestão alimentar, com o passar dos anos, haverá aumento na gordura corporal (HORBER et al., 1996).

Neste sentido, várias pesquisas estão objetivando estabelecer ideal orientação alimentar para perda de peso com segurança. Muitas recomendações sugerem uma redução modesta na ingestão calórica associada ao consumo de uma dieta balanceada para promover redução no peso corporal de 0,5 a 1 kg por semana. A *American Dietetic Association* (1997), recomenda que o indivíduo se alimente de forma saudável e que realize dieta com ingestão calórica baixa; a *American Heart Association* (1997) defende as mesmas diretrizes, porém ressalta que a quantidade total de calorias ingeridas pelos homens não deve ser inferior a 1.500kcal/dia, e

para as mulheres 1200kcal/dia, recomenda também a ingestão de 15% de calorias de origem protéica, menos de 30% de origem lipídica e no mínimo 55% de origem de carboidratos, onde os alimentos ingeridos devem ser ricos em micronutrientes para garantir que a dieta ingerida esteja dentro dos padrões recomendados pelo *Recommended Dietary Allowances* (RDA) de vitaminas e minerais.

Existem ainda estratégias para elaboração do plano alimentar visando o emagrecimento, onde 55 a 60% das calorias ingeridas diariamente derivam de carboidrato (sendo 20% simples e o restante complexo), 15 a 20% de proteína (não menos de 0,8 g/kg de peso desejável), 20 a 25% de lipídios (7% de gordura saturada, 10% de gordura poliinsaturada e 13% de gordura monoinsaturada) onde a quantidade de colesterol não deve ultrapassar 300 mg/dia, devendo, ainda, ingerir 20 a 30g de fibra/dia (COUTINHO, 1999).

No entanto, a alta incidência de regimes alimentares e o freqüente uso de produtos de baixas calorias estão associados com o paradoxo aumento na prevalência da obesidade. Apesar da existência de inúmeros órgãos científicos que fornecem as diretrizes para o equilíbrio metabólico e obtenção de saúde, por vezes, indivíduos iludidos em obter resultados rápidos em seus tratamentos para perda de peso, aderem às dietas da moda, utilizam fármacos ou ainda passam por restrição alimentar severa, prejudicando o funcionamento metabólico do organismo e perdendo grande quantidade de sais minerais (principalmente sódio, cálcio, magnésio

e fósforo) e líquidos ( $\pm 50\%$ ) podendo causar hipotensão arterial (CUVELLO & PATIN, 2003).

Decorrente da restrição alimentar severa, ou diminuição acentuada na ingestão de carboidratos, ocorre maior mobilização dos triglicerídeos armazenados, acarretando elevação na oxidação de ácidos graxos e conseqüentemente maior formação de corpos cetônicos, além de aumentar o catabolismo protéico para gliconeogênese, o que resulta em redução do gasto energético e, conseqüentemente, ganho de peso corporal, principalmente proveniente de gordura (SHETTY, 1990).

Além disto, os indivíduos não conseguem permanecer por longos períodos com tais intervenções, ocasionando o efeito io-iô, também conhecido como efeito sanfona, onde um dos principais efeitos adversos é a perda de massa magra, ou seja, perda de tecido corporal metabolicamente ativo, resultando em diminuição na taxa metabólica basal, o que explica a dificuldade de emagrecimento mesmo com a prática de dietas com valores calóricos decrescentes.

Muitos mecanismos atuam na diminuição da taxa metabólica basal (TMB), dentre eles podemos citar, diminuição da atividade do sistema nervoso simpático, mudanças periféricas no metabolismo do hormônio tireoidiano, redução da secreção de insulina, mudanças na secreção de glucagon, do hormônio do crescimento e glicocorticóides.



Desta forma, estudos que envolvam a análise dos efeitos de dietas hiperlipídicas e ciclos de alimentação sobre ganho de peso corporal e variáveis associadas mostram-se de grande relevância.

Sclafani & Springer (1976), na tentativa de produzir obesidade em ratos através da alimentação, escolheram produtos de supermercado altamente palatáveis e hipercalóricos e os adicionaram à ração. Os animais podiam escolher entre sete tipos de alimentos, incluindo, chocolates, bolachas, salame, queijos, banana, leite com chocolate e amendoim. Obtendo sucesso na indução da obesidade, a dieta foi denominada “dieta de cafeteria”, uma vez que os animais selecionavam seus próprios alimentos. A principal vantagem neste tipo de protocolo experimental era o fato de se apresentar de maneira similar à maioria dos casos de obesidade em humanos, em que a hiperfagia é voluntária.

No entanto, o uso de dieta de “cafeteria” foi extensivamente criticado devido à falta de controle da composição dietética. Em 1987, Moore escreveu um artigo detalhado sobre os aspectos negativos da dieta, um dos principais argumentos da autora foi que, para se ter fidedignidade nos resultados de um experimento, ele deve ter controle, entretanto esta dieta de “cafeteria” ignora este preceito fundamental do método científico, uma vez que cada animal podia escolher seu próprio alimento, diferindo a dieta uns dos outros dentro de um mesmo grupo experimental.

Quanto a isto, recentemente Estadella (2001) padronizou uma dieta hiperlipídica e altamente palatável com a mistura de ração, chocolate,

amendoim torrado e bolacha maizena, sendo oferecida na forma de pellets aos animais experimentais. Resultados de pesquisas (DUARTE, 2001; FERREIRA, 2002; BERNARDES, 2003) demonstraram ser esta dieta hábil em induzir obesidade e alterações metabólicas relacionadas à síndrome metabólica, com a conveniência de ser eficientemente controlada. Por estes motivos este protocolo foi adotado na presente pesquisa.

## **2.6. Contribuição do Exercício Físico na Prevenção e Controle da Obesidade**

A atividade física sempre existiu na história da humanidade. Estudos antropológicos e evidências históricas relatam a existência desta prática desde a cultura pré-histórica, como um componente integral da expressão religiosa, social e cultural.

De acordo com Caspersen *et al.* (1985), a atividade física é uma expressão genérica que pode ser definida como qualquer movimento corporal, produzido pelos músculos esqueléticos, que resulta em gasto energético maior do que os níveis de repouso, sendo o exercício físico uma atividade sistematizada, planejada, estruturada e repetitiva que tem como objetivo final aprimorar a saúde.

A idéia de que o exercício físico está associado com a boa saúde não é nova. Atualmente, esta atividade é uma necessidade absoluta para o

homem, pois com o desenvolvimento tecnológico que vem se instalando desde os tempos da Revolução Industrial, observamos uma grande transformação da sociedade numa população de indivíduos estressados e hipoativos, que embora gozem do relativo conforto proporcionado pelos avanços da modernidade, padecem com a quebra da harmonia orgânica em função da inatividade física, resultando em balanço energético positivo e obesidade.

Inúmeras funções e estruturas orgânicas são afetadas pelo treinamento, sendo estas alterações específicas para cada tipo de exercício realizado. Considerando especificamente o contexto do presente estudo, torna-se importante ressaltar os ajustes fisiológicos resultantes do treinamento aeróbio, de intensidade moderada e longa duração.

Algumas das principais adaptações deste tipo de treinamento incluem aumento da densidade mitocondrial e das enzimas oxidativas, tornando o músculo esquelético mais eficiente em ressintetizar ATP a partir do metabolismo oxidativo. Além disso, este tipo de treinamento promove aumento no leito vascular dos músculos treinados, melhorando a troca de gases, substratos e metabólitos. A enzima lipase lipoprotéica (LPL), cuja função é hidrolisar os TG circulantes liberando os ácidos graxos para serem armazenados, é favorecida por esta maior capilarização, pois, os sítios de ligação desta enzima tornam-se mais disponíveis, favorecendo a provisão de AGL aos músculos (ASTRAND, 1992; LADU et al., 1991; BERGÖ et al., 1996).

Independentemente da faixa etária analisada, verifica-se que o exercício crônico moderado promove modificações importantes do metabolismo lipídico, tais como: diminuição da concentração plasmática de lipídios totais, LDL, porcentagem de gordura corporal, aumento do peso da massa magra, da taxa metabólica basal e da concentração plasmática de HDL e Apolipoproteína A-I (GRILLO, 1994; DENADAI et al., 1996; CEZAR, 1997; VASANKARI et al., 1998). Adicionalmente, os exercícios físicos promovem também importantes alterações de neurotransmissores (LOPES, 2001).

Além disto, durante a realização do exercício, em função do tempo e intensidade, ocorre importante redução na liberação da insulina que tende a estabilizar e manter um platô a 50-60% do consumo máximo de oxigênio (VO<sub>2</sub> max). Este ajuste fisiológico agudo em resposta ao exercício é indispensável para que ocorra lipólise, pois a insulina inibe a atividade da lipase hormônio sensível (LHS) convertendo a forma fosforilada (ativa) a um estado inativo e além deste efeito antilipolítico, a ação da lipase lipoprotéica (LPL) é dependente da insulina. Dessa forma, a insulina caracteriza-se por ser, ao mesmo tempo, um hormônio antilipolítico e lipogênico (CHRISTIE et al., 1996; JOHNSON et al. 2001).

A regulação da taxa de lipólise varia de acordo com a localização do tecido adiposo estudado. Estas variações são amplamente atribuídas às diferenças regionais na densidade e função de receptores adrenérgicos. Evidências indicam que a sensibilidade lipolítica às

catecolaminas é maior em células do tecido adiposo branco visceral, seguida pela gordura subcutânea do abdômen e, finalmente, pela gordura subcutânea glúteo-femural. Assim, a liberação de ácidos graxos pela gordura visceral é maior do que nos demais depósitos corporais, gerando inúmeras desordens metabólicas (HOROWITZ & KLEIN, 2000; KELLEY et al., 2000). Assim, estas alterações na mobilização e oxidação de lipídeos em pessoas com obesidade central deve ser um importante foco de atenção para os especialistas em prescrição de exercício.

Várias pesquisas evidenciaram que o exercício enquanto um tratamento não farmacológico, tem sido amplamente utilizado como um eficiente recurso para promover aumento do gasto energético. No entanto, sabe-se que em pessoas obesas várias alterações metabólicas ocorrem, principalmente no metabolismo lipídico, o que acarreta diferentes respostas em relação ao estresse físico do exercício, por este motivo, cientistas vêm estudado as alterações metabólicas conseqüentes do exercício em humanos e animais obesos (BONADONNA et al., 1990; WOLFE et al., 1990; CAMPBELL et al., 1992; ROMIJN et al., 1993; BROOKS & MERCIER, 1994; RUBY & ROBERGS, 1994; VAN DER VUSSE & RENEMAN, 1996; HOROWITZ, 1997).

O incremento na taxa de lipólise durante o exercício físico é regulado principalmente pela ativação hormonal (catecolaminas, hormônio do crescimento (GH), hormônios tireoideanos (T3 e T4), hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), glucagon) nos receptores  $\beta$ -adrenérgicos,

estimulando a atividade da enzima lipase hormônio sensível (LHS), principal enzima responsável pela lipólise. Caso o exercício esteja sendo realizado abaixo do limiar de lactacidemia, grande parte destes ácidos graxos será oxidada pelos músculos ativos durante o exercício (WOLFE et al., 1990; ROMIJN et al., 1993).

No entanto, em indivíduos obesos, a circulação sangüínea do tecido adiposo é menor que em indivíduos eutróficos em situação de repouso. Segundo Horowitz, 2001, durante o exercício este fato também ocorre, pois existe menor estímulo  $\beta$ -adrenérgico em indivíduos obesos e, além disto, há uma proporção relativamente constante entre o número de capilares e o número de adipócitos, ou seja, a capilarização permanece constante nas células de gordura independentemente do seu tamanho. Assim, o aumento do volume de adipócitos promove diminuição na irrigação sangüínea neste tecido.

Associado a isto, em repouso, indivíduos obesos apresentam maior capacidade de captação de ácidos graxos pelo músculo, provavelmente devido ao aumento das proteínas de ligação de ácidos graxos da membrana celular no músculo. Entretanto durante o exercício, indivíduos com obesidade central não aumentam significativamente a captação de ácidos graxos pelos músculos, pois valores similares foram observados em indivíduos eutróficos e obesos (KANALEY et al., 1993; SIMONEAU et al., 1999).

Outra alteração do metabolismo lipídico observado em obesos é a diminuição na atividade da enzima carnitina palmitoil transferase-I (CPT-I), diminuindo a oxidação de gordura, apesar da alta captação pelo músculo. Os ácidos graxos captados pelos músculos, quando não oxidados, são reesterificados e estocados nas células musculares, sendo este aporte de triglicerídeos musculares, bem menor que o encontrado no tecido adiposo (HOROWITZ et al., 2001).

De acordo com Goodpaster et al. (1997) em indivíduos com obesidade central, a alta concentração intramuscular de triglicerídeos está diretamente relacionada à resistência insulínica e ao metabolismo de glicose. A redução de TG intramuscular em pessoas obesas em resposta ao treinamento pode indicar aumento da sensibilidade à insulina e diminuição do risco de desenvolvimento de diabetes. Além disso, foi verificado que mesmo após perda de peso, em indivíduos com obesidade central, a dificuldade em oxidar lipídios persiste. Este é um dos fatores que dificulta a manutenção do novo peso corporal (SIMONEAU et al., 1999; HOROWITZ et al., 2001)

Embora indivíduos com obesidade central tenham maior taxa lipolítica basal, a lipólise durante o exercício não responde na mesma proporção quando comparados a indivíduos com obesidade periférica ou indivíduos magros. Neste sentido, verificou-se que ocorre resistência lipolítica às catecolaminas, o que tem sido atribuída à baixa densidade de receptores  $\beta_2$  adrenérgicos no tecido adiposo central subcutâneo, pois indivíduos com

adiposidade central apresentaram elevada taxa lipolítica basal e menor aumento na taxa lipolítica durante o exercício, quando comparados aos indivíduos eutróficos (REYNISDOTTIR *et al.*, 1994).

Durante a realização do exercício esta baixa taxa de sensibilidade lipolítica às catecolaminas, pode contribuir para a manutenção da relação mobilização/oxidação lipídica, pois a excessiva mobilização de ácidos graxos na circulação, associada à captação de ácidos graxos que não são oxidados pelo fígado e pelos músculos, contribuiria para ocorrência de desordens metabólicas em indivíduos com obesidade central, como por exemplo, hipertrigliceridemia e resistência insulínica (HOROWITZ 2001).

No entanto, vale destacar que de acordo com o consenso de 1998, realizado pelo National Institute of Health e o do Colégio Americano de Medicina Desportiva em 1999, o exercício físico quando não acompanhado de alterações no comportamento alimentar, geralmente, promove apenas pequenos benefícios (GRUNDY *et al.*, 1999). Por outro lado, estudos posteriores têm assumido que mesmo de forma isolada o exercício pode ser uma importante estratégia para a redução do grau de obesidade e de suas co-morbidades (ROSS *et. al.*, 2000)

Desta forma, o binômio exercício físico e alimentação equilibrada representa a principal forma de tratamento não farmacológico e não invasivo, visando o controle de peso e da obesidade.



## ***2.7. Obesidade e Regulação Hormonal da Ingestão Alimentar***

Nos últimos anos, o tecido adiposo tem sido identificado como o principal órgão endócrino do organismo pois secreta vários fatores peptídicos e não-peptídicos. Novas pesquisas vêm sendo desenvolvidas com o intuito de investigar os principais mecanismos moleculares e hormonais e a inter-relação destes com o sistema nervoso central, visando compreender a regulação do consumo e gasto energético (OTTO et al., 2001; TSCHOP & MORRISON, 2001).

Em 1994 foi clonado o gene da leptina, pelo grupo do Dr. Friedman da Universidade Columbia de Nova York, que desencadeou uma verdadeira revolução na compreensão da biologia da obesidade. A leptina caracteriza-se como um hormônio polipeptídeo codificado pelo gene obesidade (*ob*) que é expresso principalmente nos adipócitos, tanto de humanos quanto de roedores, e que atua como um fator de sinalização entre o tecido adiposo e o sistema nervoso central, regulando a ingestão alimentar, o gasto energético e conseqüentemente o peso corporal. Foi previamente verificado que a administração deste hormônio estimula a redução da ingestão alimentar e concomitantemente aumenta o gasto energético em modelos experimentais de obesidade (ZHANG et al., 1994; CAMPFIELD et al., 1995; HALAAS et al., 1995; STEPHENS et al., 1995; TRAYHURN et al., 1995; COLLINS et al., 1996; LEVINE et al., 1996; MERCER et al., 1996).

O receptor da leptina expressa-se em vários tecidos, no entanto seus principais efeitos sobre o peso corpóreo manifestam-se por ação hipotalâmica. A hipertrofia dos adipócitos está em direta associação com a secreção desse hormônio, que reduz a ingestão alimentar via múltiplos mecanismos e aumenta o gasto energético, o que tende a fazer a massa adiposa retornar ao seu "set point" (WAJCHENBERG, 2000, DAMIN, 2000).

Em humanos foi identificada ausência da produção de leptina, estes indivíduos nascem com peso normal, mas, devido a um apetite voraz, tornam-se obesas. Estes pacientes beneficiam-se do uso de leptina, à semelhança das experiências realizadas com os ratos ob (ratos deficientes em leptina).

No entanto, na maioria das pessoas obesas, o "set point" é diferente, talvez devido a resistência à ação da leptina, ou seja, a maioria das pessoas obesas apresentam excesso de leptina e não falta, sugerindo que o mecanismo seja mais uma resistência à ação deste hormônio do que sua falta, provavelmente devido a dificuldade em atravessar a barreira hêmato-liquórica (WAJCHENBERG, 2000, DAMIN, 2000).

A concentração circulante de leptina, assim como a expressão do RNAm nos adipócitos, pode ser influenciada pela ingestão alimentar, por variações do peso corporal, pela insulina e pelos corticosteróides (FALORNI et al., 1997).

Os adipócitos, sobretudo do tecido subcutâneo, possuem o produto gênico leptina, sendo que o aumento da ingestão calórica aumenta a

secreção, e o inverso também é verdadeiro. Desta forma, este hormônio funciona como um sensor do balanço energético, que é parcialmente mediado pela síntese de peptídeos anorexigênicos, como o peptídeo CART (cocaine-anphetamin-regulated transcript) e a POMC (pró-opiomelanocortina), e também pela modulação de peptídeos orexigênicos, pela ação do neuropeptídeo Y (NPY) e proteínas relacionadas ao aguti (AGRP), diminuindo a ingestão alimentar. Além de promover termogênese, por estimulação  $\beta$ -3 adrenérgica no tecido adiposo marrom, e lipólise do tecido adiposo branco (WAJCHENBERG, 2000).

A POMC, sob ação da pró-convertase 1 (PC1), dá origem a peptídeos bioativos como o hormônio estimulante dos melanócitos  $\alpha$  ( $\alpha$ -MSH) (COWLEY et al., 2001). A importância do sistema da melanocortina na homeostase energética foi revelada a partir da identificação do gene agouti e seu mecanismo de ação (CONE, 1999). O peptídeo AGRP (agouti-related protein) é um antagonista competitivo dos receptores da melanocortina, receptores MC1R na pele e MC4R no hipotálamo, bloqueando a ligação do  $\alpha$ -MSH ao receptor MC4 e impedindo que o mesmo induza saciedade (LU et.al, 1994).

O gene da AGRP é expresso no núcleo arqueado do hipotálamo, nas mesmas células que expressam o neuropeptídeo Y (NPY), que por sua vez, é o principal peptídeo orexígeno, promovendo aumento da ingestão alimentar e da lipogênese e reduz o gasto energético em animais. A

redução dos níveis de leptina e insulina ativa os neurônios produtores de NPY (SCHWARTZ et al.,2000). Entretanto, não foram demonstradas diferenças nos níveis de NPY no plasma, nem no líquido entre humanos de peso normal e obesos (NAM et al., 2001). Jejum e perda de peso estimulam a expressão do NPY (SCHWARTZ et al.,2000).

Os peptídeos derivados da POMC agem através da ligação com receptores da melanocortina (MC1R a MC5R), os quais pertencem ao grupo dos receptores ligados à proteína G, com 7 alças transmembranas, que estimulam a adenilato-ciclase. Eles se encontram amplamente distribuídos em tecidos periféricos e no SNC (CATANIA et al., 2000). No entanto, o MC4R, é o receptor de maior importância para o presente estudo, e mutações neste receptor representam a desordem genética mais comum presente na obesidade humana de início precoce (O'RAHILLY, 2002).

O CART (cocaine and amphetamine-regulated transcript), também pertencente à via anorexígena, é expresso no núcleo arqueado do hipotálamo, nas mesmas células que expressam a POMC. O RNAm do CART foi descoberto em 1995, quando a administração de estimulantes psicomotores induziu a expressão deste transcrito no SNC (CHALLIS et al., 2000). Estudos demonstraram associação da obesidade a variantes do gene CART, relacionados à diminuição do gasto energético e à obesidade em humanos. Além disto, a síntese de CART é induzida pela leptina e reduzida pelo jejum (DEL GIUDICE et al., 2001).

Um outro hormônio mais recentemente descoberto que participa da regulação do balanço energético é a grelina, um peptídeo gástrico composto por 28 aminoácidos, que estimula a secreção de hormônio do crescimento e aumenta a adiposidade. Foi primeiramente caracterizado como ligante endógeno para os receptores do hormônio liberador de hormônio do crescimento (GHRH), o qual é expresso pela adenohipófise. Desta forma, a grelina induz fortemente a liberação do hormônio de crescimento, ativando estas regiões hipotalâmicas específicas (DICKSON, 2002; PINKNEY & WILLIAMS, 2002).

O hormônio grelina é produzido principalmente no estômago, por células neuroendócrinas e funciona como um efector orexígeno, realizando uma ligação entre o trato gastrintestinal e o cérebro (PINKNEY & WILLIAMS, 2002). A produção gástrica deste hormônio é regulada através de fatores nutricionais e hormonais. Dentre os sinais inibitórios, estão a leptina, a interleucina-1b, o hormônio de crescimento e a dieta hiperlipídica; por outro lado, a dieta hipoprotéica promove elevação da concentração plasmática de grelina (SHINTANI et al. 2001; LEE et al., 2002).

Sabe-se que concentrações significantes desta substância são encontradas também no intestino delgado e grosso (ARIYASU et al., 2001), nas células  $\alpha$  das ilhotas pancreáticas (DATE et al., 2002), nos rins, placenta e hipófise (HORVATH et al., 2001) e em neurônios do núcleo arqueado do hipotálamo (KOJIMA et al., 2001). Ela funciona como um "iniciador de

refeição", seus níveis se elevam uma a duas horas antes de uma refeição, caindo logo após a refeição (CUMMINGS et al., 2001).

As concentrações plasmáticas de grelina sobem progressivamente durante o jejum e diminuem até uma hora após a alimentação (CUMMINGS et al., 2001). A possibilidade de que alta concentração plasmática de grelina possa ativar a ingestão alimentar foi confirmada por diversas pesquisas em roedores nos quais a administração central (intracerebroventricular) e periférica (subcutânea e intraperitoneal) de grelina induziu à obesidade devido ao aumento da ingestão alimentar e diminuição da oxidação lipídica (NAKAZATO et al., 2001; RAVUSSIN et al., 2001; WREN et al., 2001; HINNEY et al., 2002). Este efeito é mediado, ao menos em parte, por excitação de neurônios do núcleo arqueado que coexpressam dois peptídeos orexigênicos: NPY e a AGRP (KAMEGAI et al., 2001; WILLIAMS et al., 2001). A AGRP antagoniza o MC4R, desta forma bloqueando a sinalização através do sistema da melanocortina e o NPY estimula fortemente a ingestão alimentar (Schwartz et al., 2000).

A produção excessiva de grelina pode levar à obesidade. A síndrome de Prader-Willi, a forma mais comum de obesidade sindrômica humana, é causada pela falta de expressão dos genes paternos no braço longo do cromossomo 15. Caracteriza-se por hiperfagia severa, deficiência de GH, hipogonadismo, hipotonia neonatal, feições dismórficas e déficit cognitivo. Os portadores desta síndrome apresentam níveis muito elevados

de grelina, que podem ter um papel na patogênese da hiperfagia (HAQQ et al., 2003).

Em humanos, resultados de pesquisas demonstram que frente a uma administração intravenosa de grelina em pessoas saudáveis, observa-se aumento da fome subjetiva e da ingestão alimentar (ARVAT et al., 2000; WREN et al., 2002).

A grelina regula o metabolismo e as adaptações gastrointestinais durante o jejum e suprime estas funções temporariamente após a alimentação. Durante o jejum, a combinação de diminuição da concentração plasmática de insulina e aumentada secreção de hormônio do crescimento promove a lipólise. A fome e o comportamento de busca por comida são estimulados pela queda dos níveis circulantes de leptina e de insulina, e através do aumento das concentrações de grelina (WILLIAMS et al., 2001). Uma vez realizada a alimentação, a concentração de insulina aumenta e a de grelina diminui (PINKNEY & WILLIAMS, 2002).

Recentes estudos em humanos têm demonstrado que a concentração plasmática de grelina está inversamente relacionada ao percentual de gordura corporal, ou seja, em indivíduos obesos a concentração plasmática de grelina apresenta-se bastante diminuída (BELLONE et al., 2002; HANSEN et al., 2002; HINNEY et al., 2002; TANAKA et al., 2002). No entanto, ENGLISH et al., 2002, demonstraram que após a ingestão alimentar, a concentração plasmática de grelina não diminuiu em indivíduos obesos. Isto poderia ocasionar um aumento do consumo

alimentar, sugerindo que a grelina pode estar envolvida com a fisiopatologia da obesidade.

Apesar disto, há uma outra maneira deste hormônio contribuir para a obesidade. A rápida perda de peso causa elevação dos níveis de grelina, que aumenta o apetite, dificultando a perda de peso adicional. Por outro lado, a cirurgia bariátrica com bypass gástrico está associada a níveis extremamente suprimidos de grelina, o que possivelmente contribui para a diminuição do apetite, auxiliando no emagrecimento (CUMMINGS et al., 2002). Pacientes com bulimia nervosa também apresentam níveis mais elevados de grelina, possivelmente por hiperatividade vagal aferente, o que pode explicar a compulsão alimentar (TANAKA et al., 2002).

Tanto a leptina quanto a grelina, são fatores relacionados com funções endócrinas de sinalização central e participam da regulação da ingestão alimentar, no entanto possuem funções antagônicas. O hormônio grelina estimula e a leptina inibe o apetite. A análise das concentrações plasmáticas demonstrou que as secreções destes hormônios são sincronizadas e que ocorrem de forma pulsátil (BAGNASCO et al., 2002).



## **3. OBJETIVOS**

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

Determinar os efeitos de diferentes intervenções sobre o balanço energético perfil metabólico e endócrino em ratos eutróficos e obesos exógenos.

### ***3.2. Objetivos Específicos***

- Identificar o efeito do exercício e da ingestão alimentar em ratos eutróficos e obesos exógenos sobre a evolução e ganho de massa corporal.

- Avaliar a influência da dieta e do treinamento na ingestão e eficiência alimentar.

- Comparar a área e diâmetro dos adipócitos, bem como, peso absoluto e relativo do tecidos adiposos brancos, retroperitoneal (RET) e epididimal (EPI), e tecido adiposo marrom (TAM) em resposta ao exercício físico e às modificações dietéticas.

- Verificar a concentração plasmática de glicose, colesterol total, HDL-c e triglicerídeos, bem como, o conteúdo de glicogênio muscular e hepático em ratos treinados e alimentados com diferentes dietas.

- Comparar as alterações das vias de regulação do metabolismo lipídico (lipólise e lipogênese), resultantes do exercício e de diferentes intervenções dietéticas.

- Elucidar os efeitos do treinamento e da intervenção nutricional, sobre as secreções de grelina, leptina e insulina em ratos eutróficos e obesos exógenos, submetidos ou não ao treinamento.

## **4. MATERIAIS E MÉTODOS**

### ***4.1. Animais e Condições Experimentais***

Para a realização deste estudo foram utilizados 48 ratos machos adultos, com aproximadamente 90 dias, da linhagem Wistar, pesando entre  $230\pm 10$ g, procedentes do Biotério Central da Universidade Federal de São Carlos.

Durante todo o período experimental, os animais foram mantidos no biotério do Laboratório de Nutrição e Metabolismo, do Departamento de Educação Física e Motricidade Humana, desta mesma universidade, com temperatura controlada ( $24 \pm 1$ oC) e fotoperíodo artificial de 12/12 horas.

### ***4.2. Desenho Experimental***

Os animais foram divididos em 6 grupos experimentais:

Grupos de Animais Sedentários:

- 1- SP: Animais alimentados com dieta padrão (Nuvilab®).
- 2- SH: Animais alimentados com dieta hiperlipídica.
- 3- SC: Animais alimentados com dieta cíclica (dieta hiperlipídica na 1a, 3a, 5a e 7a semana e dieta padrão na 2a, 4a, 6a e 8a semana).

Grupos de Animais Treinados:

- 4- TP: Animais alimentados com dieta padrão (Nuvilab®).
- 5- TH: Animais alimentados com dieta hiperlipídica.
- 6- TC: Animais alimentados com dieta cíclica (dieta hiperlipídica na 1a, 3a, 5a e 7a semana e dieta padrão na 2a, 4a, 6a e 8a semana).

### ***4.3. Composição das Dietas***

#### ***4.3.1. Composição e Oferta da Dieta Padrão***

Foram ofertadas aos animais dieta padrão da marca NUVILAB® e água ad libitum. Esta dieta consistiu de ração comercial para ratos, contendo 19% de proteína, 56% de carboidrato, 3,5% de lipídeos, 4,5% de celulose, 5% de vitaminas e minerais e 12% de água com 3,78 kcal/g.

#### ***4.3.2. Composição e Oferta da Dieta Hiperlipídica***

Conforme previamente padronizada por Estadella et al., 2004, a dieta hiperlipídica foi constituída de alimentos hipercalóricos na seguinte proporção:

- 15g de ração padrão, marca NUVILAB® (3,78 kcal/g);
- 10g de amendoim torrado (5,95 kcal/g);
- 10g de chocolate ao leite marca SERRA AZUL® (6,11 Kcal/g);
- 5g de bolacha maisena, marca ELBI'S® (3,55 Kcal/g).

Esses constituintes foram moídos e misturados na forma de pelets. O conteúdo energético desta dieta foi de 4,88 Kcal/g, perfazendo 1,10 Kcal/g a mais do que a dieta padrão utilizada (3,78 kcal/g). Esta dieta continha 19% de proteína, 47% de carboidrato, 16% de lipídeos, 3% de celulose, 5% de vitaminas e minerais, e foi ofertada, de forma ad libitum, aos animais dos grupos sedentário (SH) e exercitado (TH), durante todo o período experimental.

Os grupos alimentados por ciclos alternados de dieta, submetidos ou não ao treinamento (SC e TC), ingeriram esta mesma dieta hiperlipídica de forma ad libitum na 1<sup>o</sup>, 3<sup>o</sup>, 5<sup>o</sup>, 7<sup>o</sup> semanas de tratamentos e nas demais semanas (2<sup>o</sup>, 4<sup>o</sup>, 6<sup>o</sup>, 8<sup>o</sup>) os mesmos foram alimentados com dieta padrão ad libitum.

#### **4.4. Protocolo de Treinamento**

Os animais de todos os grupos treinados foram submetidos ao exercício aeróbio moderado (natação), com a frequência de 05 vezes por semana, em tanques individuais (50 cm de altura x 30 cm de diâmetro). A temperatura da água foi mantida em aproximadamente  $34 \pm 2$ °C, sendo trocada diariamente.

No primeiro e segundo dia os ratos nadaram por 30 minutos sem adição de carga, no terceiro dia houve adição de carga (3% do peso corpóreo atado à cauda). Nos dias subsequentes, o tempo de treinamento aumentou para 1 hora e meia com sobrecarga adicional, 3 a 5% do peso corpóreo ajustado semanalmente, para que o animal não flutuasse e mantivesse a atividade durante todo o período estipulado para a realização do exercício. Este procedimento foi previamente padronizado por Dâmaso (1996).

#### **4.5. Controle da Massa Corporal e Consumo Alimentar**

Os valores da massa corporal e do consumo alimentar de cada animal, foram registrados diariamente durante todo o período experimental.

O consumo alimentar foi calculado através da diferença de peso entre a ração ofertada e as sobras. Para o cálculo da evolução da massa corporal e da eficiência alimentar foram utilizadas as fórmulas:

Delta ( $\Delta\%$ )=[(Peso final – peso inicial / peso inicial) x 100]

Eficiência alimentar = Ganho de massa corporal / ingestão alimentar

#### **4.6. Experimentos e Coleta de Amostras**

Os animais de todos os grupos experimentais foram sacrificados por decapitação em guilhotina ao final de 08 semanas de tratamento. Vale salientar que, os animais submetidos ao treinamento foram sacrificados em repouso, 24 horas após a última sessão de treinamento, para observação dos ajustes fisiológicos crônicos decorrentes do exercício.

Após a decapitação, o sangue, os tecidos adiposos brancos retroperitoneal (RET) e epididimal (EPI), o tecido adiposo marrom inter-escapular (TAM), o músculo gastrocnêmio (GAST) e o fígado (FIG), foram separados, imediatamente pesados e estocados em freezer a -20oC para posteriores análises bioquímicas e morfométricas.

#### **4.7. Análises Bioquímicas e Morfométricas**

##### **4.7.1. Medida de Área e Diâmetro dos Adipócitos**

Após a separação dos tecidos, aproximadamente 100 mg de tecido adiposo retroperitoneal e epididimal foram removidos de cada depósito de gordura e colocados em solução salina, de forma a lavar e remover as gorduras livres. Em seguida, para a determinação do tamanho das células adiposas, os tecidos foram fixados em tampão colidina 0,2 M, contendo 1% de tetróxido de ósmio, em estufa a 37°C, por um período de aproximadamente 24 horas. As células foram lavadas e suspensas em solução salina morna e imediatamente retiradas e espalhadas em lâminas para posterior medida das áreas dos adipócitos. Este método foi previamente descrito por Hirsch & Gallian (1968). Para a medida referente às respectivas áreas das células adiposas, utilizamos um sistema de microscopia ótica, Image Pro-plus.

Para a verificação de possíveis modificações da celularidade adiposa dos animais, foram medidas as áreas e os diâmetros de aproximadamente 60 adipócitos dos tecidos adiposos brancos (retroperitoneal e epididimal) de cada animal. Este procedimento permitiu uma observação constante da quantidade de células medidas, utilizando aproximadamente 500 áreas e diâmetros de adipócitos por subgrupo de animais, por tecido. Os valores médios e os respectivos erros padrão foram expressos em  $\mu\text{m}$ .

#### ***4.7.2. Glicogênio Muscular e Hepático***



O glicogênio muscular e hepático foi quantificado após digestão alcalina de 200mg de tecido muscular e 100 mg de tecido hepático em 1,0 ml de KOH 6,0 N em “banho-maria” fervente por 3 minutos. Após a digestão, um volume adequado de extrato (250  $\mu$ l) da suspensão foi transferido para 3,0 ml de etanol (70%) e 1,0 ml de  $K_2SO_4$  (10%). Após a floculação, a solução foi centrifugada a 3000 rpm por 3 minutos, sendo o sobrenadante descartado. O precipitado foi ressuspendido com água destilada (2,0 ml) e uma alíquota adequada (500  $\mu$ l para músculo e 100  $\mu$ l para fígado) foi adicionada a 500  $\mu$ l de fenol (4,1%) seguido de adição de ácido sulfúrico concentrado, ao meio de reação (DUBOIE *et al.*, 1956). Os tubos de reação foram imediatamente resfriados em banho de água e a leitura óptica realizada em 480 nm. A concentração de glicosil-glicose foi estimada contra um padrão de glicose contendo 100 nmoles.

A concentração de glicogênio muscular e hepático foi determinada a partir da fórmula:

**Conc. Glicogênio** =  $\frac{\text{Abs Am.} \times [\text{padrão glicose}]}{\text{diluição}}$

Abs Pb. x Peso do tecido

Em que:

Abs Am.= absorbância da amostra;

[padrão glicose]= concentração padrão de glicose (100 nmols);

Diluição= diluição do extrato (músculo = 16 vezes; fígado = 80 vezes);

Abs Pb. = absorbância padrão;

Peso do tecido = 200 mg de músculo e 50 mg de fígado.

Unidade de medida:  $\mu\text{mols}$  de glicosil-glicose/g

#### **4.7.3. Determinação da taxa de lipólise**

Para a determinação da taxa de lipólise, cerca de 100 mg de tecido adiposo em duplicatas foram picotados e colocados em 2ml de Krebs Henseleit previamente aerado (pH 7,4) contendo 1% de albumina bovina livre de ácidos graxos, e incubados a 37°C por 1 hora, o término da incubação foi realizado em gelo. O meio de incubação foi, então, utilizado para a determinação de glicerol.

O glicerol liberado foi determinado por método enzimático de Eggstein & Kreutz (1966), onde para que 1 mol de NADH seja oxidado é

necessário 1 mol de glicerol. Este método mede a queda de densidade óptica resultante da oxidação de NADH na reação de formação de lactato a partir do glicerol presente no meio de incubação. Dessa forma, mede-se a diferença do NADH sem GK (glicero-kinase) e após a adição de GK, que corresponde à quantidade de NAD<sup>+</sup> formado a partir dessa reação. A leitura da absorbância foi realizada a 340 nm. A taxa de lipólise foi expressa em μmol de glicerol liberado/ hora por 100 mg de tecido.

#### ***4.7.4. Determinação da Taxa de Lipogênese***

A taxa de lipogênese foi avaliada a partir da incorporação de água triciada ( $3\text{H}_2\text{O}$ ) às moléculas de lipídios, através do método descrito por Robinson & Williamson (1978).

Os animais receberam injeção intraperitoneal de 3 mCi de água triciada e foram sacrificados após 60 minutos. Essa técnica estima a taxa lipogênica total independentemente dos substratos fisiológicos (glicose, piruvato, aminoácidos, etc) utilizados para sua síntese. Como a atividade específica da água triciada no plasma permanece constante por uma hora, mede-se a síntese de lipídios que ocorre durante esse período.

Após a retirada de uma amostra de sangue (para a determinação da atividade específica da água triciada no plasma), fragmentos de aproximadamente um grama dos tecidos adiposos brancos epididimal e retroperitoneal, fígado e músculo gastrocnêmio foram colocados,

em duplicata, em tubos contendo 3 ml de hidróxido de potássio 30% que foram aquecidos em banho-maria a 70o C por 15 minutos para a digestão e saponificação. A seguir, adicionamos 3 ml de etanol absoluto e os tubos ficaram em banho-maria a 70o C por mais 1 hora e 45 minutos, para a total hidrólise dos triglicerídeos, ésteres de colesterol e fosfolipídios. Posteriormente, os tubos foram resfriados, sendo adicionado 2,5 ml de ácido sulfúrico 6N à mistura saponificada.

Conforme método descrito por Stansbie et al. (1976), os ácidos graxos totais e o colesterol livre foram extraídos por 3 lavagens sucessivas com éter de petróleo. O produto das extrações foi lavado com 2 ml de água destilada e em seguida foram transferidos para frascos de cintilação, previamente pesados, e permaneceram em capela à temperatura ambiente até total evaporação do éter de petróleo. Após a pesagem dos frascos, os lipídios foram dissolvidos em 5 ml de coquetel de cintilação OptiPhase HiSafe 3 (EG & G Company®) para a medida da radioatividade.

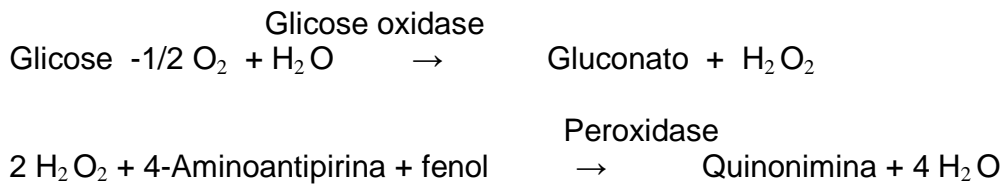
A taxa de lipogênese foi expressa como  $\mu\text{mol}$  de  $^3\text{H}_2\text{O}$  incorporada em lipídios/g de tecido.

#### **4.8. Análises Bioquímicas do Plasma**

As determinações bioquímicas do plasma de glicose, colesterol total, triglicerídeos foram realizadas por métodos colorimétricos específicos, utilizando-se Kit da CELM®.

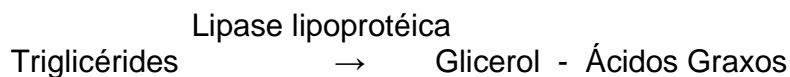
#### **4.8.1. Glicose**

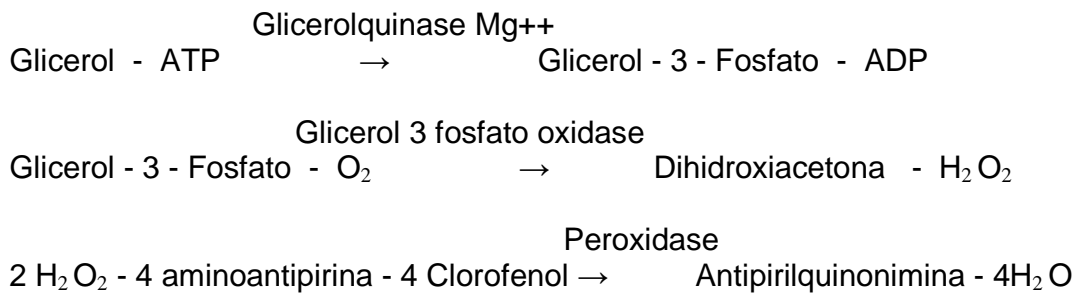
Esta metodologia tem como princípio o fato de que a glicose da amostra, em presença de oxigênio, sofre a ação da enzima glicose oxidase, produzindo peróxido de hidrogênio, que pela ação da peroxidase e em presença de reagente fenólico (fenol) e 4-aminoantipirina produz um composto corado (quinonimina), com máximo de absorção em 500nm. A cor formada é proporcional à concentração de glicose da amostra. Resultando na reação:



#### **4.8.2. Triglicerídeos**

Esta metodologia tem como princípio o fato da lipase hidrolisar os triglicerídeos produzindo glicerol e ácidos graxos. O glicerol é fosforilado com ATP em presença de Glicerolquinase formando glicerol 3 fosfato. Este é oxidado liberando  $\text{H}_2\text{O}_2$ , que na presença de 4 Aminoantipirina e 4 Clorofenol, dará lugar à formação da Antipirilquinonimina, com um máximo de absorção em 545nm, segundo o seguinte esquema:



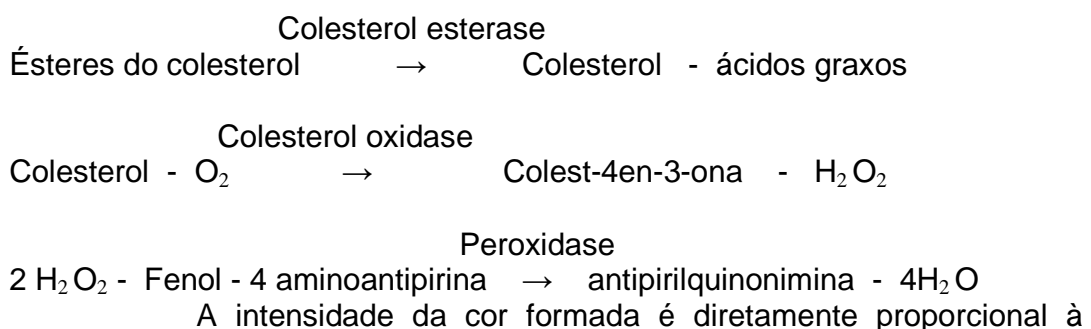


A intensidade de cor formada é diretamente proporcional à concentração dos triglicérides na amostra.

#### **4.8.3. Colesterol Total**

Esta metodologia tem como princípio a oxidação do colesterol enzimaticamente pela colesterol oxidase, com prévia hidrólise enzimática dos ésteres mediante uma lipase de origem fungal.

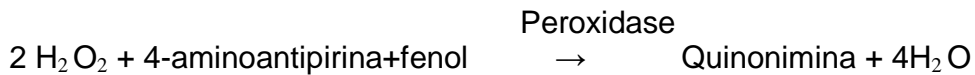
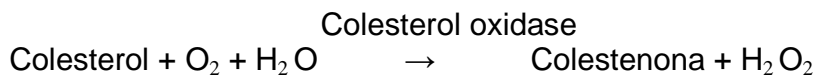
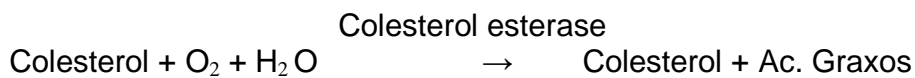
A água oxigenada gerada na oxidação, produz a copulação oxidativa do fenol com a 4 Aminoantipirina, catalisada pela peroxidase, com formação de uma quinonimina vermelha, segundo o seguinte esquema:



concentração do colesterol na amostra.

#### **4.8.4. Fração HDL-colesterol**

O fosfotungstato e íons magnésio precipitam os quilomícrons, as lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e muito baixa densidade (VLDL) sem alterar a solubilidade das lipoproteínas de alta densidade. Após centrifugação, recolhe-se o líquido sobrenadante, que contém a fração HDL, cujo colesterol HDL é determinado enzimaticamente segundo as reações descritas abaixo:



#### **4.8.5. Insulina**

A determinação da concentração plasmática de insulina foi realizada pelo método de radioimunoensaio, utilizando Kit da DPC-Med Lab® Phoenix Pharmaceuticals, USA. O método baseia-se na competição, para a ligação com o anticorpo anti-insulina, entre a insulina marcada com  $^{125}\text{I}$  e insulina hepática fria e marcada. Mantendo-se constante a quantidade de hormônio radioativo, a formação do complexo hormônio marcado anticorpo é

inversamente proporcional à concentração do complexo insulina fria-anticorpo. Assim após a separação total do hormônio radioativo livre, a radioatividade emitida pela amostra será medida por meio de um contador de raios gama (modelo ANSR-ABBOTT).

Uma curva elaborada com diferentes concentrações de padrão de insulina de rato permite o cálculo da concentração sérica do hormônio. Esses valores foram expressos em  $\mu\text{U/ml}$ .

#### **4.8.6. Leptina**

A concentração de leptina no plasma foi determinada através do método de radioimunoensaio, sendo utilizado Kit da Linco® para leptina de rato. O princípio do método é o mesmo que foi descrito para a dosagem de insulina.

Os valores foram calculados utilizando-se uma curva padrão de leptina de rato e os valores foram expressos em  $\text{ng/ml}$ .

#### **4.8.7. Grelina**

A concentração de grelina plasmática foi mensurada em duplicata através do método de radioimunoensaio, sendo utilizado um Kit comercial da Linco®. A determinação da concentração plasmática de grelina foi realizada pelo método de radioimunoensaio, onde o método baseia-se na competição, seguindo os mesmos princípios da dosagem da insulina. Sendo o resultado final expresso em  $\text{ng/ml}$



#### **4.9. Tratamento Estatístico dos Dados**

Os resultados foram anotados em fichas próprias para cada análise, e posteriormente tratados por procedimentos estatísticos compatíveis com os objetivos propostos. Os valores apresentaram distribuição na curva gaussiana. Diante deste resultado, foram aplicados testes paramétricos.

Para análise estatística dos dados, foi realizada a análise de variância (ANOVA) e como post- hoc, o teste Tukey Kraemer. O nível de significância foi estabelecido em  $p \leq 0,05$ , conferindo 95% de confiança.

## **5. RESULTADOS**

### **5.1. Evolução da Massa Corporal**

Quanto à evolução da massa corporal, verifica-se na tabela 1, que entre os grupos não houve diferença significativa em relação ao efeito da dieta e do exercício. No entanto, podemos considerar importantes alterações percentuais como o aumento de 24,8% e 9,7% na evolução da massa corporal nos grupos SC e SH, respectivamente, quando comparados ao grupo SP.

Com a realização do exercício houve redução de 21,5% e de 21,6% na comparação da evolução da massa corporal dos grupos TP com SP e de TC com SC, respectivamente. No grupo alimentado com dieta hiperlipídica o treinamento não alterou esta variável.

## 5.2. Ganho de Massa Corporal

Analisando-se o ganho de massa corporal total (g), verifica-se que não houve diferença significativa quando compara-se o efeito das diferentes dietas e do exercício. No entanto, observa-se aumento de 7,3% e 22% nos animais alimentados com dieta hiperlipídica e cíclica, respectivamente, quando comparados aos alimentados com dieta padrão (tabela 1).

Na figura 1, observa-se o ganho de massa corporal semanal referente ao efeito da ingestão de diferentes dietas. De modo geral, em todos os animais experimentais, houve redução gradual desta variável ao longo das semanas de tratamento.

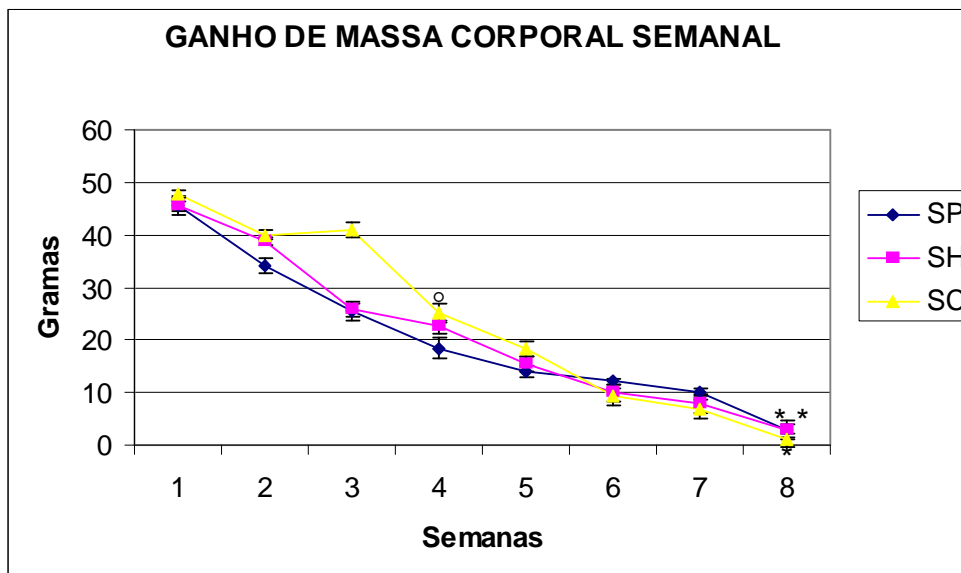
Quanto ao efeito do exercício, na figura 2, verifica-se a eficácia do treinamento moderado de natação no grupo TP, que apresentou tendência à redução no ganho de massa corporal, durante o período experimental. Observa-se, figura 3, que o exercício reduziu o ganho de peso corporal, dos animais alimentados com dieta hiperlipídica somente nas primeiras semanas de treinamento.

No grupo alimentado com dieta cíclica, nem mesmo o exercício foi suficiente em reduzir o ganho de massa corporal nas semanas em que foram alimentados com dieta hiperlipídica e altamente palatável (figura 4). Observa-se também nesta figura, redução do ganho de massa corporal para

o grupo TC, em relação ao SC da 1ª à 4ª semana, e aumento desta variável da 5ª à 8ª semana de treinamento.

**Tabela 1-** Evolução de massa corporal (%) e ganho de massa corporal (g) em animais sedentários e treinados alimentados com diferentes dietas. Os valores estão apresentados como média e erro padrão da média, (n=8).

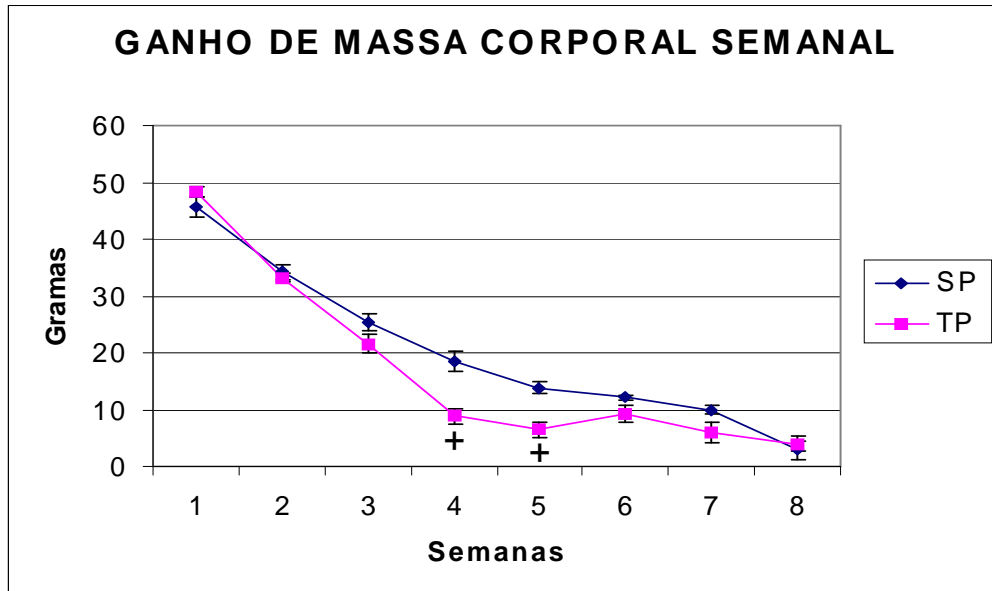
<b>Grupos</b>	<b>Evolução da Massa</b>	<b>Ganho de Massa</b>
	<b>Corporal (%)</b>	<b>Corporal (g)</b>
<b>SP</b>	83,76 ± 17,76	177,00 ± 29,01
<b>SH</b>	91,89 ± 14,96	190,00 ± 32,56
<b>SC</b>	104,58 ± 12,22	215,88 ± 29,81
<b>TP</b>	68,93 ± 12,93	144,10 ± 26,8
<b>TH</b>	90,45 ± 16,43	188,25 ± 33,56
<b>TC</b>	86,00 ± 20,18	190,57 ± 47,44



°  $p \leq 0,05$  Análise intra grupo, comparando-se as sucessivas semanas

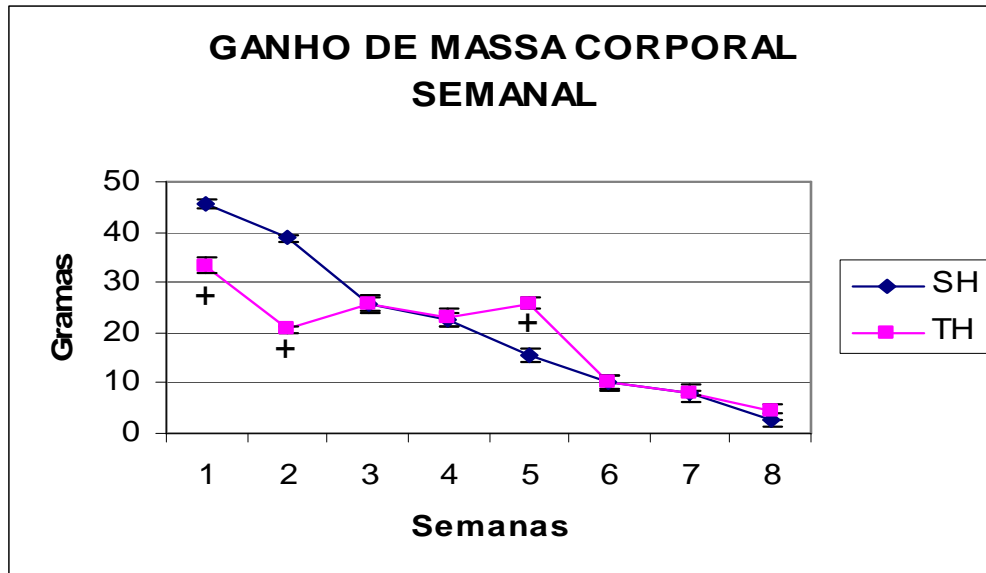
\*  $p \leq 0,05$  Análise intra grupo, comparando-se a 1<sup>o</sup> à 8<sup>o</sup> semana

**Figura 1-** Comparação entre as diferentes dietas no ganho de massa corporal semanal (g) de todos os grupos experimentais. Valores apresentados como média e erro padrão da média.



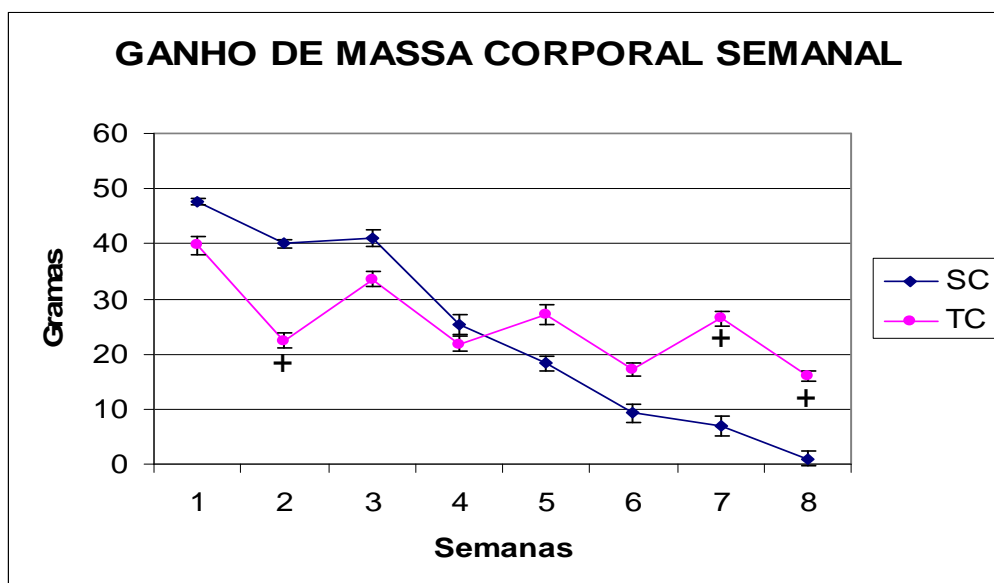
+  $p \leq 0,05$  comparando-se treinados e sedentários

**Figura 2-** Comparação do ganho de massa corporal semanal (g), nos animais sedentários e treinados, alimentados com dieta padrão. Valores apresentados como média e erro padrão da média.



+  $p \leq 0,05$  comparando-se treinados e sedentários

**Figura 3-** Comparação do ganho de massa corporal semanal (g), nos animais sedentários e treinados, alimentados com dieta hiperlipídica. Valores apresentados como média e erro padrão da média.



+  $p \leq 0,05$  comparando-se treinados e sedentários

**Figura 4-** Comparação do ganho de massa corporal semanal (g), nos animais sedentários e treinados, alimentados com dieta cíclica. Valores apresentados como média e erro padrão da média.



### **5.3 Ingestão Alimentar**

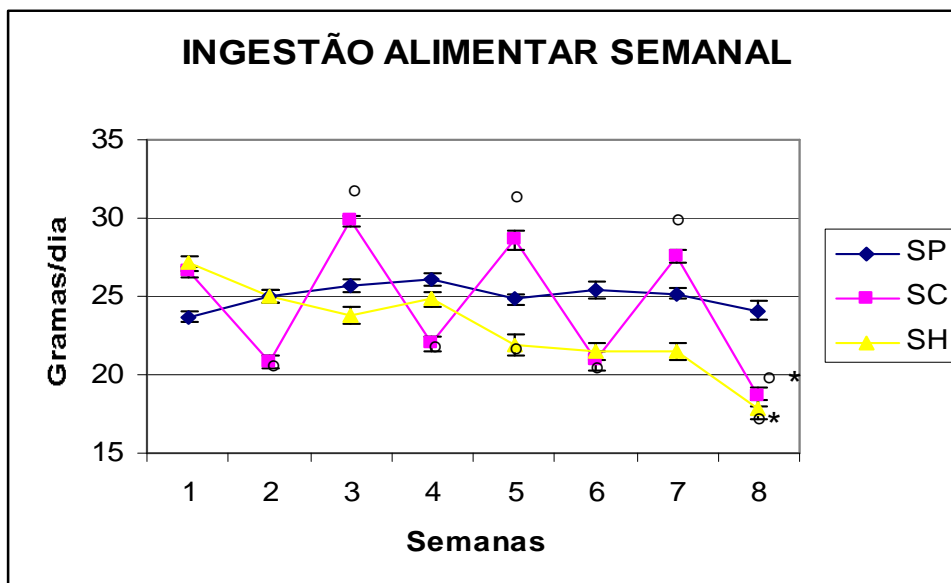
Na tabela 2, verifica-se quanto à ingestão alimentar (g) que, durante todo o período experimental, não houve diferença significativa entre os grupos analisados, no entanto, observa-se maior valor percentual para os animais que ingeriram dieta cíclica, quando comparados aos que ingeriram dieta hiperlipídica (9,3%).

O exercício não promoveu alteração significativa nesta variável, entretanto, observou-se aumento de 10% no grupo TP, quando comparado ao TC. Este mesmo valor percentual se manteve quando foi analisada a ingestão calórica total (tabela 2).

Verifica-se que, em relação à ingestão calórica total (Kcal), ocorreu aumento significativo nos grupos SH e SC, quando comparados ao grupo SP. Nota-se que não houve alterações significativas desta variável, nos grupos SH e SC versus os respectivos grupos treinados (tabela 2).

Através da análise intra grupo, nota-se que os animais alimentados com dieta hiperlipídica reduziram o consumo alimentar ao longo das semanas de tratamento (figura 5). Com relação ao grupo alimentado com dieta cíclica, houve aumento significativo da ingestão alimentar nas semanas em foram ofertadas dieta hiperlipídica e redução na semana de dieta padrão (figura 5), comportamento similar foi observado no mesmo grupo em resposta ao treinamento (figura 8).

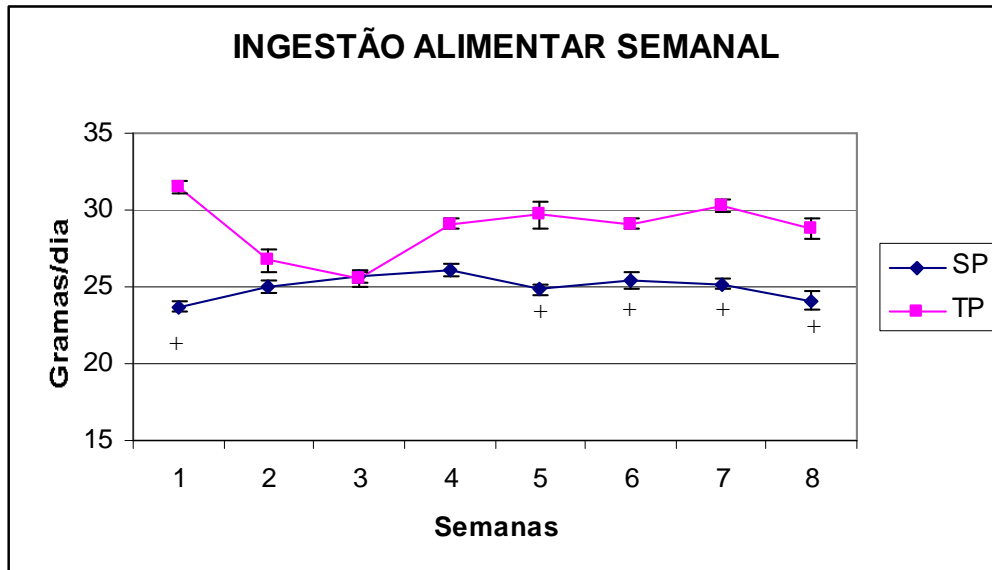
Ainda com relação à análise destes parâmetros, verifica-se diferenças significativas entre os grupos sedentários e treinados. Quanto ao efeito do exercício no grupo TP observa-se, com exceção da 3ª semana, maior consumo alimentar do que no grupo SP (figura 6). Na comparação do grupo SH versus TH, observa-se que na 4ª semana de tratamento, houve um ponto de cruzamento onde os animais sedentários diminuíram a ingestão alimentar, enquanto o grupo treinado aumentou o consumo desta variável (figura 7).



°  $p \leq 0,05$  Análise intra grupo, comparando-se as sucessivas semanas

\*  $p \leq 0,05$  Análise intra grupo, comparando-se a 1ª à 8ª semana

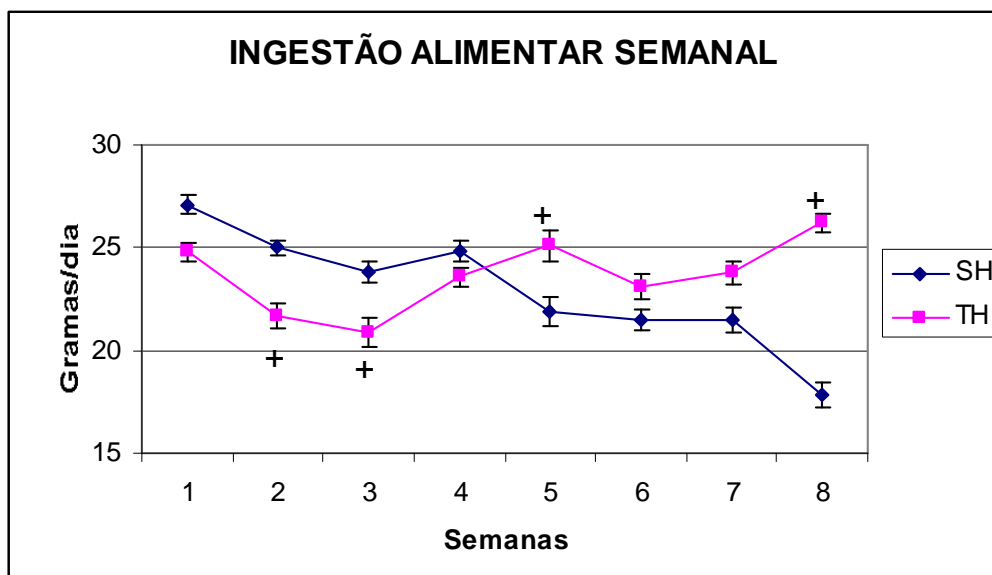
**Figura 5**– Comparação entre as diferentes dietas na ingestão alimentar semanal em gramas (g) de todos os grupos experimentais. Valores apresentados como média e erro padrão da média.



+ p

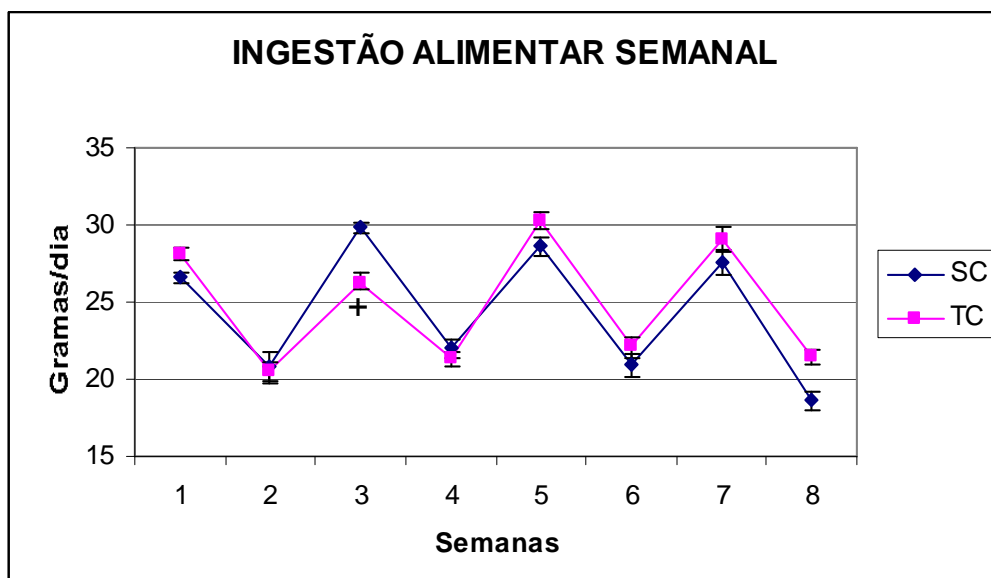
$\leq 0,05$  comparando-se treinados e sedentários

**Figura 6**– Efeito do exercício sobre a ingestão alimentar semanal em gramas comparando animais que ingeriram dieta padrão. Valores apresentados como média e erro padrão da média.



+  $p \leq 0,05$  comparando-se treinados e sedentários

**Figura 7**– Efeito do exercício sobre a ingestão alimentar semanal em gramas comparando animais que ingeriram dieta hiperlipídica. Valores apresentados como média e erro padrão da média.



+ p

≤ 0,05 comparando-se treinados e sedentários

**Figura 8** – Efeito do exercício sobre a ingestão alimentar semanal em gramas comparando os animais que ingeriram dieta cíclica. Valores apresentados como média e erro padrão da média.

#### 5.4 Eficiência Alimentar

Verifica-se na tabela 2, que houve aumento significativo da eficiência alimentar apenas no grupo SC, quando comparado ao grupo SP (SP=0,14±0,01; SC=0,17±0,01\*). Houve ainda aumento de 14,3% no grupo SH quando comparado ao grupo SP. No que se refere aos efeitos do exercício, verifica-se diminuição significativa no grupo TC em relação ao grupo SC.

**Tabela 2-** Ingestão alimentar e calórica (gramas e Kcal) e eficiência alimentar em animais sedentários e treinados, alimentados com diferentes dietas. Os valores estão apresentados como média e erro padrão da média (n=8).

<b>Grupos</b>	<b>Ingestão alimentar(g)</b>	<b>Ingestão calórica (Kcal)</b>	<b>Eficiência alimentar</b>
<b>SP</b>	1279 ± 88,1	4834 ± 333,01	0,14 ± 0,01
<b>SH</b>	1192± 118,77	5817 ± 579,63*	0,16 ± 0,02
<b>SC</b>	1303 ± 100,25	5781 ± 452,8*	0,17 ± 0,01*
<b>TP</b>	1406 ± 84,34	5313 ± 318,78	0,15 ± 0,02
<b>TH</b>	1239 ± 100,69	6046 ± 491,35	0,15 ± 0,02
<b>TC</b>	1323 ± 119,24	5887 ± 519,85	0,14 ± 0,03 <sup>+</sup>

\* p ≤ 0,05; grupo sedentário padrão versus demais grupos sedentários

<sup>+</sup> p ≤ 0,05; grupos sedentários versus grupos treinados alimentados com o mesmo tipo de dieta

### **5.5 Peso Absoluto dos Tecidos**

Quanto ao peso absoluto dos tecidos adiposos brancos retroperitoneal (RET) e epididimal (EPI), houve aumento significativo no grupo SH, quando comparado ao grupo SP. No RET verifica-se redução significativa no grupo SC, quando comparado ao grupo SH (SH=9,22±4,24; SC=4,76±1,88<sup>#</sup>). Comparando o grupo sedentário alimentado com dieta cíclica ao grupo controle, observa-se aumento

percentual de 42,5% e 47,5% no peso do RET e EPI, respectivamente (tabela 3).

O treinamento não influenciou estatisticamente o peso absoluto do RET e do EPI. No entanto, pela observação da tabela, verifica-se redução percentual desta variável nos animais treinados.

Houve aumento percentual no peso do tecido adiposo marrom (TAM), em resposta à ingestão hiperlipídica de forma contínua ou cíclica. Quanto ao efeito do exercício nesta variável, observa-se aumento significativo em todos os grupos alimentados analisados (tabela 3).

Em relação ao músculo gastrocnêmico e ao fígado, não houve diferença ponderal significativa entre os grupos experimentais, não havendo alterações referentes à dieta ingerida e nem ao exercício.

**Tabela 3-** Peso absoluto dos tecidos (gramas) em animais sedentários e treinados, alimentados com diferentes dietas. Os valores estão apresentados como média e erro padrão da média (n=8).

<b>G/TECIDO</b>	<b>RET</b>	<b>EPI</b>	<b>TAM</b>	<b>GAST</b>	<b>FIG</b>
<b>SP</b>	3,34 ± 1,04	3,39 ± 0,52	0,28 ± 0,07	1,85 ± 0,36	13,57 ± 1,31
<b>SH</b>	9,22 ± 4,24 <sup>*</sup>	6,18 ± 2,31 <sup>*</sup>	0,38 ± 0,09	1,81 ± 0,12	14,02 ± 1,54
<b>SC</b>	4,76 ± 1,88 <sup>#</sup>	5,00 ± 1,61	0,33 ± 0,11	1,94 ± 0,14	13,21 ± 1,21
<b>TP</b>	2,83 ± 1,07	3,14 ± 0,8	0,64 ± 0,15 <sup>+</sup>	2,05 ± 0,21	14,69 ± 1,89
<b>TH</b>	6,26 ± 1,98	4,92 ± 1,27	0,92 ± 0,14 <sup>+</sup>	1,78 ± 0,13	13,65 ± 2,14
<b>TC</b>	4,93 ± 2,66	4,67 ± 2,29	0,74 ± 0,09 <sup>+</sup>	1,93 ± 0,23	14,55 ± 2,14

\* p ≤ 0,05; grupo sedentário padrão versus demais grupos sedentários

# p ≤ 0,05; grupo sedentário alimentado com dieta hiperlipídica versus grupo sedentário alimentado com dieta cíclica

+ p ≤ 0,05; grupos sedentários versus grupos treinados alimentados com o mesmo tipo de dieta

### **5.6 Peso Relativo dos Tecidos**

Com relação ao efeito específico da dieta nos tecidos adiposos brancos retroperitoneal (RET) e epididimal (EPI), verifica-se na tabela 4, que os grupos alimentados com dieta hiperlipídica e dieta cíclica, apresentaram valores significativamente maiores quando comparados ao grupo alimentado com dieta padrão.

Quando se compara os grupos sedentários que ingeriram dieta hiperlipídica, observa-se que o peso do RET e EPI foi maior no



grupo alimentado continuamente com esta dieta (SH). Nos grupos treinados, houve redução significativa do RET e EPI, apenas nos animais alimentados com dieta hiperlipídica de forma contínua.

A dieta hiperlipídica promoveu aumento significativo no peso relativo do TAM nos animais sedentários. O peso relativo deste tecido, assim como o absoluto, foi maior nos grupos treinados.

**Tabela 4-** Peso relativo dos tecidos (gramas/100g de massa corporal) em animais sedentários e treinados, alimentados com diferentes dietas. Os valores estão apresentados como média e erro padrão da média (n=8).

G/Tecido	RET	EPI	TAM	GAST	FIG
SP	0,83 ± 0,06	0,85 ± 0,06	0,07 ± 0,01	0,46 ± 0,03	3,38 ± 0,24
SH	2,26 ± 0,2 <sup>*</sup>	1,51 ± 0,14 <sup>*</sup>	0,09 ± 0,01 <sup>*</sup>	0,44 ± 0,04	3,44 ± 0,3
SC	1,12 ± 0,09 <sup>* #</sup>	1,18 ± 0,09 <sup>* #</sup>	0,08 ± 0,01	0,45 ± 0,04	3,12 ± 0,25
TP	0,66 ± 0,04	0,73 ± 0,05	0,15 ± 0,01 <sup>+</sup>	0,48 ± 0,03	3,43 ± 0,24
TH	1,58 ± 0,14 <sup>+</sup>	1,24 ± 0,11 <sup>+</sup>	0,23 ± 0,02 <sup>+</sup>	0,45 ± 0,04	3,44 ± 0,31
TC	1,20 ± 0,14	1,20 ± 0,22	0,18 ± 0,02 <sup>+</sup>	0,47 ± 0,05	3,54 ± 0,43

<sup>\*</sup> p ≤ 0,05; grupo sedentário padrão versus demais grupos sedentários

<sup>#</sup> p ≤ 0,05; grupo sedentário alimentado com dieta hiperlipídica versus grupo sedentário alimentado com dieta cíclica

<sup>+</sup> p ≤ 0,05; grupos sedentários versus grupos treinados alimentados com o mesmo tipo de dieta

### ***5.7. Glicose Plasmática e Glicogênio Muscular e Hepático***

Observa-se que, decorrente da ingestão hiperlipídica (SH) ocorreu aumento significativo na concentração de glicogênio muscular e hepático, quando comparado aos grupos SP e SC. Além disto, pode notar-se que o treinamento aumentou significativamente o estoque de glicogênio muscular e hepático nos ratos alimentados com dieta padrão em relação ao respectivo grupo sedentário.

A concentração plasmática de glicose aumentou significativamente em ratos alimentados com dieta hiperlipídica em relação aos alimentados com dieta padrão e cíclica. Em relação ao treinamento para este mesmo tipo de dieta, observou-se redução significativa na glicemia plasmática e aumento do glicogênio muscular (tabela 5).

**Tabela 5-** Glicogênio muscular e hepático ( $\mu\text{mols}$  de glicosil-glicose/g) e glicose plasmática (mg/dl) em animais sedentários e treinados, alimentados com diferentes dietas. Os valores estão apresentados como média e erro padrão da média (n = 8).

<b>Grupo/ Variável</b>	<b>Glicogênio Muscular</b>	<b>Glicogênio Hepático</b>	<b>Glicose Plasmática</b>
<b>SP</b>	15,50 $\pm$ 1,51	305,00 $\pm$ 9,84	125,80 $\pm$ 5,99
<b>SH</b>	31,61 $\pm$ 4,44*	541,00 $\pm$ 20,54*	149,60 $\pm$ 3,17*
<b>SC</b>	14,44 $\pm$ 1,44 <sup>#</sup>	388,14 $\pm$ 28,10 <sup>#</sup>	115,14 $\pm$ 5,67 <sup>#</sup>
<b>TP</b>	37,25 $\pm$ 4,64 <sup>+</sup>	465,43 $\pm$ 20,00 <sup>+</sup>	107,00 $\pm$ 1,76 <sup>+</sup>
<b>TH</b>	46,93 $\pm$ 4,26 <sup>+</sup>	552,13 $\pm$ 25,20	106,88 $\pm$ 4,37 <sup>+</sup>
<b>TC</b>	12,65 $\pm$ 1,11	407,43 $\pm$ 17,79	122,13 $\pm$ 2,06

\* p  $\leq$  0,05; grupo sedentário padrão versus demais grupos sedentários

<sup>#</sup> p  $\leq$  0,05; grupo sedentário alimentado com dieta hiperlipídica versus grupo sedentário alimentado com dieta cíclica

<sup>+</sup> p  $\leq$  0,05; grupos sedentários versus grupos treinados alimentados com o mesmo tipo de dieta

### **5.8. Frações Lipídicas**

Quanto as variáveis do perfil lipídico, não houve diferença entre os grupos para o colesterol total. Na tabela 6, observa-se que os animais sedentários alimentados com dieta cíclica apresentaram os menores valores de TG plasmáticos, quando comparados aos demais animais.

Verifica-se que o exercício reduziu a trigliceridemia e aumentou a fração HDL-c, do grupo TP quando comparado ao respectivo grupo sedentário.

**Tabela 6-** Frações lipídicas (triglicerídeos, colesterol total e HDL-colesterol) em animais sedentários e treinados, alimentados com diferentes dietas. Os valores estão apresentados como média e erro padrão da média (n=8).

---

<i>Grupo/ Tecido</i>	<b>TG (mg/dL)</b>	<b>COLESTEROL TOTAL (mg/dL)</b>	<b>HDL-c (mg/dL)</b>
<b>SP</b>	161,40 ± 7,55	66,40 ± 5,61	26,20 ± 1,56
<b>SH</b>	163,00 ± 6,01	70,60 ± 4,30	31,60 ± 1,17
<b>SC</b>	81,57 ± 9,89 <sup>#</sup>	73,29 ± 3,44	28,14 ± 1,65
<b>TP</b>	75,57 ± 2,89 <sup>+</sup>	67,14 ± 2,70	34,86 ± 1,78 <sup>+</sup>
<b>TH</b>	130,13 ± 8,78	73,00 ± 3,09	34,50 ± 0,91
<b>TC</b>	81,87 ± 4,54	64,75 ± 2,13	28,37 ± 1,35

\* p ≤ 0,05; grupo sedentário padrão versus demais grupos sedentários

# p ≤ 0,05; grupo sedentário alimentado com dieta hiperlipídica versus grupo sedentário alimentado com dieta cíclica

+ p ≤ 0,05; grupos sedentários versus grupos treinados alimentados com o mesmo tipo de dieta

### **5.9. Área e Diâmetro dos Adipócitos**

De modo geral, tanto a área, quanto o diâmetro dos adipócitos do RET e EPI, dos animais do grupo SH e SC aumentaram significativamente quando comparados ao grupo SP, sendo esse aumento mais acentuado no grupo SH, quando comparado ao SC (tabela 7 e figuras 9 e 10).

Considerando-se todas as variações nas composições dietéticas dos animais, notou-se redução significativa decorrente do treinamento, nas áreas e nos diâmetros dos adipócitos, tanto do RET quanto do EPI.

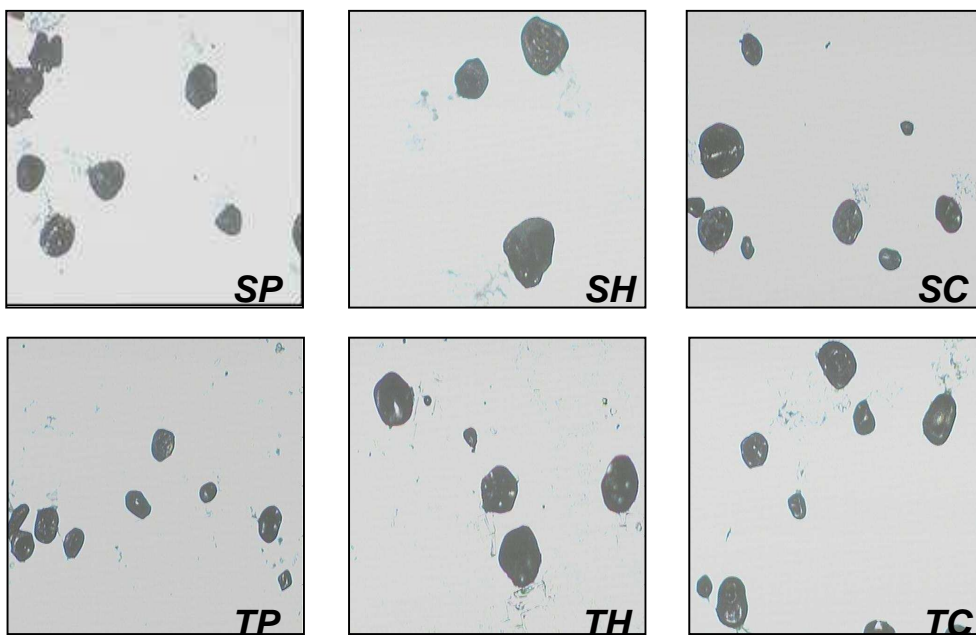
**Tabela 7-** Medida da área e diâmetro dos adipócitos ( $\mu\text{m}$ ) dos tecidos adiposos retroperitoneal (RET) e epididimal (EPI), em animais sedentários e treinados, alimentados com diferentes dietas. Os valores estão apresentados como média e erro padrão da média (n=8).

<i>GRUPOS</i>	<i>DIÂMETRO</i>			
	<i>ÁREA</i> RET ( $\mu\text{m}$ )	<i>ÁREA</i> EPI ( $\mu\text{m}$ )	<i>RET (<math>\mu\text{M}</math>)</i>	<i>DIÂMETRO</i> EPI ( $\mu\text{m}$ )
<b>SP</b>	12780 $\pm$ 333	9691 $\pm$ 197	121,63 $\pm$ 1,68	106,65 $\pm$ 1,08
<b>SH</b>	22032 $\pm$ 521*	15215 $\pm$ 396*	161,02 $\pm$ 1,99*	132,91 $\pm$ 1,78*
<b>SC</b>	13921 $\pm$ 321*	10137 $\pm$ 254 <sup>#</sup>	128,49 $\pm$ 1,46* <sup>#</sup>	108,51 $\pm$ 1,42 <sup>#</sup>
<b>TP</b>	9970 $\pm$ 184 <sup>+</sup>	7372 $\pm$ 120 <sup>+</sup>	109,28 $\pm$ 1,01 <sup>+</sup>	94,12 $\pm$ 0,77 <sup>+</sup>
<b>TH</b>	18186 $\pm$ 409 <sup>+</sup>	13715 $\pm$ 216 <sup>+</sup>	147,30 $\pm$ 1,64 <sup>+</sup>	127,72 $\pm$ 1,24
<b>TC</b>	16975 $\pm$ 417 <sup>+</sup>	11726 $\pm$ 393 <sup>+</sup>	137,47 $\pm$ 1,25 <sup>+</sup>	116,17 $\pm$ 1,23 <sup>+</sup>

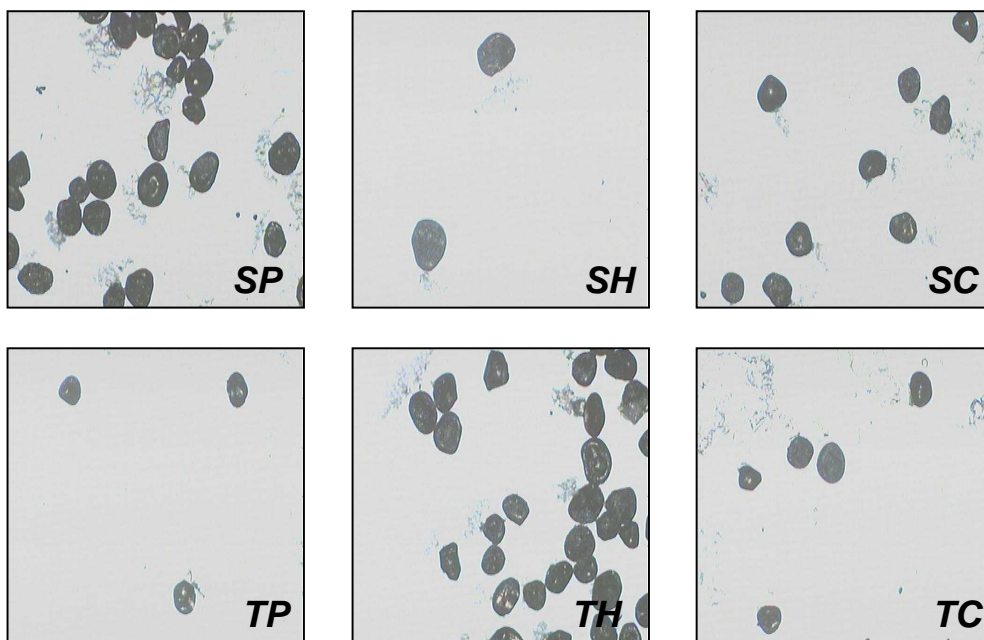
\*  $p \leq 0,05$ ; grupo sedentário padrão versus demais grupos sedentários

<sup>#</sup>  $p \leq 0,05$ ; grupo sedentário alimentado com dieta hiperlipídica versus grupo sedentário alimentado com dieta cíclica

<sup>+</sup>  $p \leq 0,05$ ; grupos sedentários versus grupos treinados alimentados com o mesmo tipo de dieta



**Figura 9-** Adipócitos do tecido retroperitoneal (RET) de animais sedentários e treinados, alimentados com diferentes dietas.



**Figura 10-** Adipócitos do tecido epididimal (EPI) de animais sedentários e treinados, alimentados com diferentes dietas.



### **5.10. Taxa de Lipogênese**

A dieta hiperlipídica e o tratamento cíclico, diminuíram significativamente a taxa de lipogênese nos tecidos RET e EPI, comparados ao grupo controle. A taxa de lipogênese do TAM foi significativamente mais baixa no grupo de SH, quando comparado ao grupo SP. Com relação ao músculo gastrocnêmico e ao fígado, nenhuma diferença significativa foi observada nesta variável, em resposta a alteração dietética (tabela 8).

Como efeito crônico do treinamento, verifica-se, nos animais alimentados com dieta padrão, redução significativa desta variável nos tecidos RET e EPI. Nos grupos exercitados e alimentados com dieta hiperlipídica (TH), nota-se reduções percentuais na taxa de lipogênese do tecidos adiposos. Além disto, o treinamento resultou em aumento na taxa de lipogênese muscular e hepática em todos os grupos analisados (tabela 8).

**Tabela 8-** Taxa de lipogênese “*in vivo*” dos tecidos ( $\mu\text{mol}$  de  $^3\text{H}_2\text{O}$  incorporada em lipídios/g de tecido) RET, EPI, TAM, FIG e GAST em animais sedentários e treinados, alimentados com diferentes dietas. Os valores estão apresentados como média e erro padrão da média (n=8).

Grupos	RET	EPI	TAM	GAST	FIG
<b>SP</b>	1,63 ± 0,22	1,79 ± 0,31	2,29 ± 0,29	0,39 ± 0,02	0,46 ± 0,05
<b>SH</b>	0,86 ± 0,06*	1,01 ± 0,10*	1,19 ± 0,43 <sup>#</sup>	0,31 ± 0,02	0,71 ± 0,14
<b>SC</b>	0,72 ± 0,05*	0,66 ± 0,06*	3,35 ± 0,27	0,36 ± 0,02	0,36 ± 0,02
<b>TP</b>	0,83 ± 0,05 <sup>+</sup>	0,59 ± 0,05 <sup>+</sup>	2,27 ± 0,44	0,64 ± 0,03 <sup>+</sup>	1,90 ± 0,13 <sup>+</sup>
<b>TH</b>	0,57 ± 0,04	0,50 ± 0,03	1,83 ± 0,14	0,45 ± 0,01 <sup>+</sup>	1,53 ± 0,05 <sup>+</sup>
<b>TC</b>	0,94 ± 0,09	0,74 ± 0,07	2,81 ± 0,21	0,52 ± 0,03 <sup>+</sup>	0,52 ± 0,03

\*  $p \leq 0,05$ ; grupo sedentário padrão versus demais grupos sedentários

<sup>#</sup>  $p \leq 0,05$ ; grupo sedentário alimentado com dieta hiperlipídica versus grupo sedentário alimentado com dieta cíclica

<sup>+</sup>  $p \leq 0,05$ ; grupos sedentários versus grupos treinados alimentados com o mesmo tipo de dieta

### **5.11. Taxa de lipólise**

A dieta hiperlipídica e a dieta cíclica (SH e SC) não modificaram a taxa lipolítica do EPI e RET, quando comparadas à dieta padrão. No grupo SH, o tratamento com norepinefrina elevou a taxa lipolítica do RET e EPI (tabela 9).

Conforme observado na tabela 9, em resposta ao efeito crônico do treinamento, nota-se elevação na taxa de lipólise, na maioria das situações experimentais, no entanto, nos animais alimentados com dieta cíclica não se verificou esse efeito.

**Tabela 9-** Taxa de lipólise “*in vitro*” ( $\mu\text{mol}$  de glicerol liberado/ hora/ 100 mg de tecido) dos tecidos RET e EPI, estimulados ou não com norepinefrina (NOR), em animais sedentários e treinados, alimentados com diferentes dietas. Os valores estão apresentados como média e erro padrão da média (n=8).

<i>GRUPOS</i>		RET + NOR	EPI	EPI + NOR
	<b>RET</b>			
<b>SP</b>	0,27 $\pm$ 0,04	0,24 $\pm$ 0,04	0,25 $\pm$ 0,03	0,39 $\pm$ 0,03
<b>SH</b>	0,12 $\pm$ 0,01	0,27 $\pm$ 0,03	0,16 $\pm$ 0,01	0,23 $\pm$ 0,04
<b>SC</b>	0,28 $\pm$ 0,06	0,54 $\pm$ 0,03 <sup>#</sup>	0,24 $\pm$ 0,01	0,56 $\pm$ 0,03 <sup>#</sup>
<b>TP</b>	0,54 $\pm$ 0,04 <sup>+</sup>	0,72 $\pm$ 0,06 <sup>+</sup>	0,54 $\pm$ 0,07 <sup>+</sup>	0,79 $\pm$ 0,03 <sup>+</sup>
<b>TH</b>	0,40 $\pm$ 0,03 <sup>+</sup>	0,45 $\pm$ 0,02	0,34 $\pm$ 0,05	0,45 $\pm$ 0,04 <sup>+</sup>
<b>TC</b>	0,36 $\pm$ 0,04	0,37 $\pm$ 0,05	0,26 $\pm$ 0,02	0,39 $\pm$ 0,04

\*  $p \leq 0,05$ ; grupo sedentário padrão versus demais grupos sedentários

#  $p \leq 0,05$ ; grupo sedentário alimentado com dieta hiperlipídica versus grupo sedentário alimentado com dieta cíclica

+  $p \leq 0,05$ ; grupos sedentários versus grupos treinados alimentados com o mesmo tipo de dieta

### **5.12. Concentração Plasmática de Leptina, Grelina e Insulina**

A concentração plasmática destes hormônios foi analisada levando-se em consideração, os fatores dieta e treinamento. Os ratos expostos à dieta hiperlipídica (SH) e à dieta cíclica (SC), exibiram altas concentrações plasmáticas de insulina, quando comparados aos ratos alimentados com a dieta padrão. O tratamento com exercício físico foi bastante eficaz em reduzir significativamente a hiperinsulinemia nos grupos TH e TC, quando comparados aos respectivos grupos sedentários (tabela 10 e figura 13).

Os níveis de leptina plasmática aumentaram significativamente nos grupos SH e SC, em comparação ao grupo SP. Diferença significativa nos níveis de leptina também foi observada entre os grupos SH ( $13,47 \pm 1,96$ ) e SC ( $5,16 \pm 0,58^{\#}$ ). Em resposta ao treinamento, verificou-se redução de 47% e 8% nos grupos TP e TC, em relação aos respectivos grupos sedentários (tabela 10).

Verifica-se comportamento bastante similar entre os níveis plasmáticos de insulina e leptina, em animais alimentados com dieta hiperlipídica e cíclica, submetidos ou não, ao treinamento (figura 11).

Na tabela 10 e figura 12, observa-se que, os níveis plasmáticos de grelina não foram significativamente alterados através de dieta. Entretanto, nota-se redução percentual nos grupos SC (31%) e SH(14%),

quando comparados ao grupo de controle. O treinamento, por sua vez, promoveu diminuição significativa desta variável, somente nos animais que receberam dieta padrão, em relação aos sedentários alimentados com a mesma dieta.

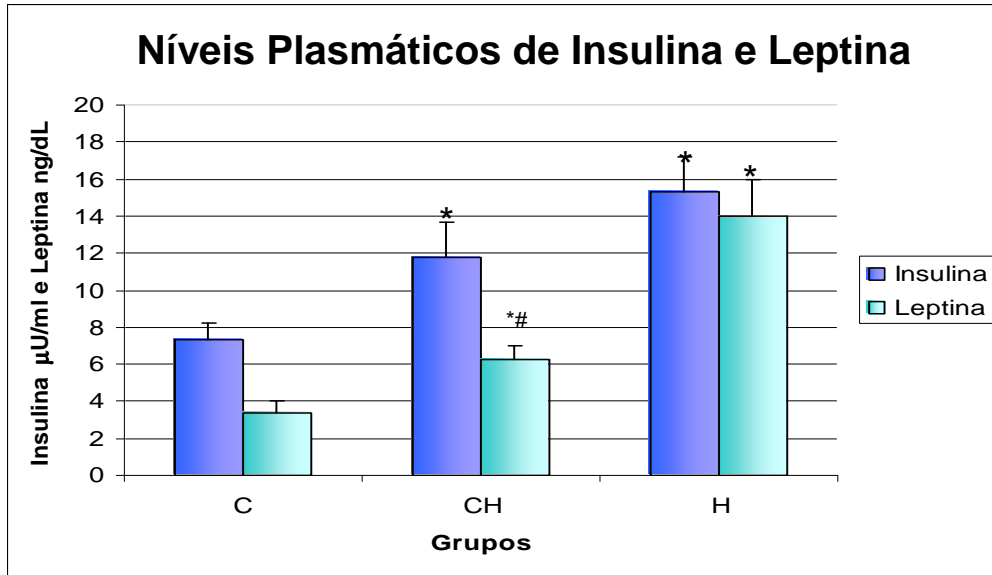
**Tabela 10-** Níveis plasmáticos de insulina, leptina e grelina em animais sedentários e treinados, alimentados com diferentes dietas. Os valores estão apresentados como média e erro padrão da média (n=8).

<i>GRUPO/ VARIÁVEL</i>	<b>LEPTINA (ng/dl)</b>	<b>GRELINA (ng/dl)</b>
	<b>INSULINA (<math>\mu</math>U/mL)</b>	
<b>SP</b>	7,5 $\pm$ 0,88	3,40 $\pm$ 0,66
<b>SH</b>	15,33 $\pm$ 1,85*	13,98 $\pm$ 1.99*
<b>SC</b>	12,83 $\pm$ 1,47*#	5,28 $\pm$ 0,69*#
<b>TP</b>	4,58 $\pm$ 0,62	2,31 $\pm$ 0,27
<b>TH</b>	3,91 $\pm$ 0,49 <sup>+</sup>	15,56 $\pm$ 2,37
<b>TC</b>	6,09 $\pm$ 0,79 <sup>+</sup>	4,89 $\pm$ 0,87

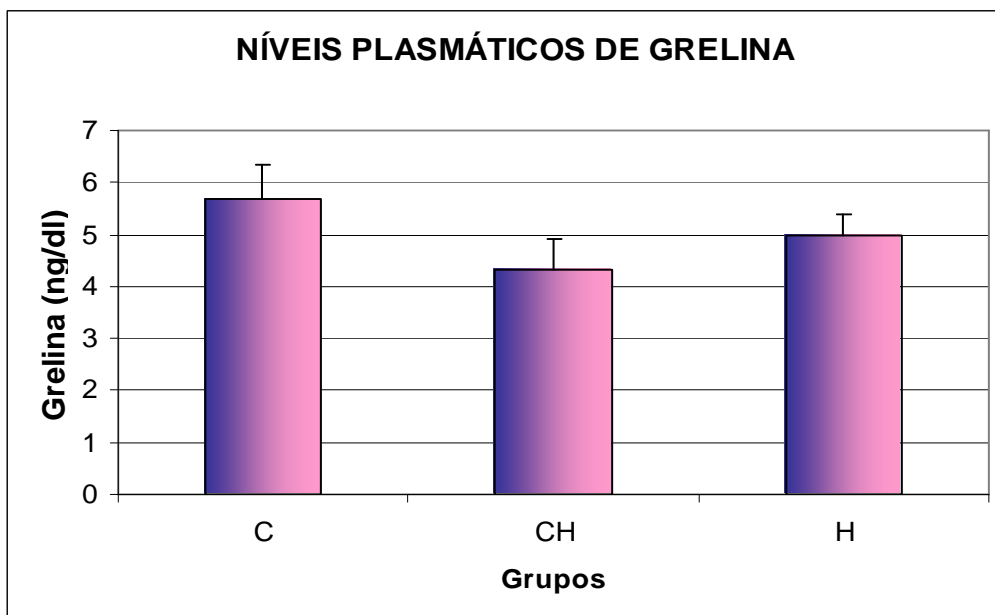
\* p  $\leq$  0,05; grupo sedentário padrão versus demais grupos sedentários

# p  $\leq$  0,05; grupo sedentário alimentado com dieta hiperlipídica versus grupo sedentário alimentado com dieta cíclica

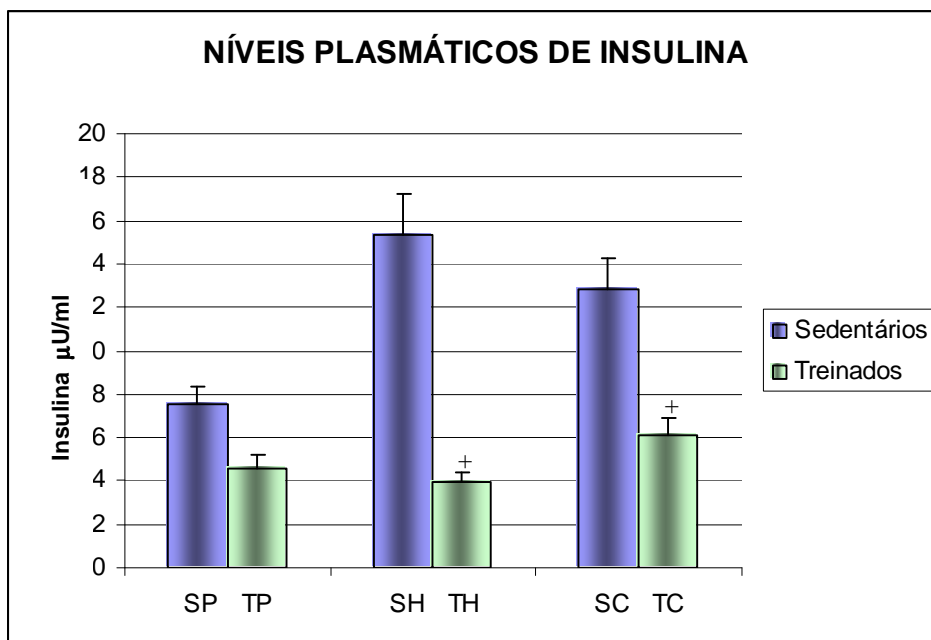
<sup>+</sup> p  $\leq$  0,05; grupos sedentários versus grupos treinados alimentados com o mesmo tipo de dieta



\*  $p \leq 0,05$ ; grupo sedentário padrão versus demais grupos sedentários  
 #  $p \leq 0,05$ ; grupo sedentário alimentado com dieta hiperlipídica versus grupo sedentário alimentado com dieta cíclica  
**Figura 11-** Efeito da dieta na concentração plasmática de insulina e leptina



**Figura 12-** Efeito da dieta na concentração plasmática de grelina



<sup>+</sup>  $p \leq 0,05$ ; grupos sedentários versus grupos treinados alimentados com o mesmo tipo de dieta

**Figura 13-** Efeito do treinamento na concentração plasmática de insulina



## **6. DISCUSSÃO**

Na presente pesquisa demonstrou-se que a dieta hiperlipídica promoveu ganho de peso corpóreo e adiposidade. Quando comparamos as 8 semanas de tratamento, os animais do grupo SH e do grupo SC pesaram 9,7% e 24,8% respectivamente mais que os ratos alimentados com dieta padrão (tabela 1). Segundo Murphy & Bloom (2004), modesta perda de peso já reduz significativamente a morbidade e mortalidade de patologias associadas à síndrome metabólica e suprime a síntese endógena de colesterol (NOAKES & CLIFTON, 2000). Segundo estimativas, com a perda de 1 kg de peso corporal, observa-se diminuição de 1% na concentração de colesterol total e LDL-c, aumento de 1 a 2% na concentração de HDL-c e redução de 5 a 10% da trigliceridemia (LEAN, 1998). Estes resultados estão de acordo com os trabalhos de Duarte, 2001, Ferreira, 2002 e Estadella, 2004, que utilizaram a mesma dieta do presente estudo, onde os animais alimentados com dieta hiperlipídica, apresentaram ganho de massa corporal em relação aos controles. Isto provavelmente ocorreu, devido ao aumento na quantidade de gordura estocada (tabela 4) e elevação no conteúdo de

glicogênio hepático (tabela 5) do grupo alimentado com dieta hiperlipídica em relação ao controle.

No entanto, outros estudos da literatura, utilizando a dieta de cafeteria padronizada por Sclafani & Springer (1976), são controversos quanto a este parâmetro. Alguns autores não encontraram aumento da massa corporal (KUSUNOKI et al., 1993; KIM et al., 1994; PODOLIN et al., 1999; KIM et al., 2000), enquanto outros verificaram elevação desta variável (BARBER et al., 1985; MARGARETO et al., 2001; GAÍVA et al., 2001).

Ressalta-se também que o treinamento não reduziu significativamente o peso corporal dos animais alimentados com diferentes dietas, no entanto, podemos observar que houve importantes alterações na composição corporal, como diminuição no peso dos tecidos adiposos (tabela 3 e 4) e aumento do conteúdo de glicogênio muscular e hepático (tabela 5), bem como provável aumento da massa magra.

Quanto a isto, sabe-se que o glicogênio é estocado com 3 g de água para cada grama do polímero. Já os triglicerídeos se encontram na forma anidra, uma vez que liberam três moléculas de água no momento de esterificação dos três grupamentos álcool do glicerol às três moléculas de ácidos graxos. Sendo assim, o glicogênio é um substrato energético de alto peso molecular em relação às gorduras (BROUNS & VAN DER VUSSE, 1998).

Vale destacar que, dietas com alto teor de gordura estão associadas à hiperfagia, no entanto ainda não está claro se esta hiperfagia é

resultante da obesidade ou se é conseqüência da alta ingestão lipídica (OESTE, 1998). Isto ainda é bem contraditório na literatura, pois, em vários estudos realizados em roedores que receberam dieta hiperlipídica, não foi observado hiperfagia, no entanto, os animais desenvolveram obesidade (OSCAI,1987). Nossos resultados concordam com esses achados, ambos regimes de dieta hiperlipídica, não aumentaram significativamente a ingestão alimentar (g). Porém, a ingestão calórica foi maior nos grupos SH e SC que no grupo controle (SP). Dentre os possíveis mecanismos potenciais que podem explicar estes resultados destacam-se a densidade calórica, a saciedade e a palatabilidade dos lipídios.

Quanto a isto, Estadella (2001) observou aumento na absorção intestinal de  $^{14}\text{C}$ -lipídeos pelos animais tratados com a dieta hiperlipídica em relação aos grupos controles. Este aumento na absorção intestinal, poderia também explicar, a ausência de hiperfagia nos grupos alimentados com dieta hiperlipídica.

Bellaver et al., (2001) demonstraram diminuição progressiva no consumo de alimentos à medida que se aumentou a densidade calórica da dieta. Estes achados estão de acordo com os nossos resultados, pois observamos semanalmente uma tendência à diminuição da ingestão alimentar para os animais alimentados com dieta hiperlipídica ao longo do tratamento (figura 5).

Curiosamente, os animais alimentados com dieta cíclica apresentaram hipofagia nas semanas em que a dieta padrão (rica em

carboidrato) foi ofertada (Figuras 5). Recentemente, Del Prete et al., (2000) demonstraram que ciclos alimentares, prejudicam a utilização dos carboidratos e induzem a aversão transiente a este nutriente. O exercício físico não aumentou o consumo alimentar (g e Kcal), assim como não alterou o comportamento cíclico exibido pelo efeito da composição da dieta (Figura 8).

No presente estudo, a dieta cíclica aumentou a eficiência metabólica de forma significativa e a dieta hiperlipídica tendenciou a um aumento, como demonstrado por outros autores (GAÍVA *et al.* 2001; SCHRAUWEN & WESTERTERP, 2000). Este resultado pode estar associado ao fato de que dietas com alto teor lipídico possuem baixa termogênese induzida pela dieta (LARSON *et al.* 1995; BOLTON-SMITH, 1996).

Quando compara-se dietas isocalóricas, hiperlipídica e hiperglicídica, observa-se que os animais apresentam maior percentual de gordura quando alimentados com dieta rica em gordura, pois o dispêndio metabólico para o estoque de lipídios é de 4%, enquanto para a metabolização de carboidratos é de 12% para a glicogênese e de 23% para a síntese lipídica (WARWICK & SCHIFFMAN, 1992; ASTRUP *et al.*, 1994), estando o organismo mais adaptado em estocar gorduras e oxidar carboidratos. Este fato proporciona, então, maior ganho de energia corporal resultante do alto consumo alimentar de lipídeos (ROTHWELL *et al.*, 1985; GAÍVA *et al.*, 2001).

No entanto, o treinamento diminuiu a eficiência alimentar no grupo TH, de forma percentual, e no grupo TC, de forma significativa, em relação aos respectivos grupos sedentários, mesmo na ausência de aumento na ingestão alimentar (tabela 2). Este fato contribuiu para que os animais treinados apresentassem os menores estoques de gordura (tabelas 3 e 4).

Nosso resultado está de acordo com outros estudos realizados com ratos (PODOLIN et al., 1999; FERREIRA, 2002) e humanos (TREMBLAY et al., 1991) e sugere que o treinamento aumenta a capacidade de mobilização da gordura existente, provavelmente devido a uma melhora na resposta  $\beta$ -adrenérgica (GLISEZINSKI et al., 1998a).

Sabe-se que a modificação na predominância da utilização dos substratos de fonte lipídica está fortemente regulada pelo tipo, duração e intensidade do exercício, morfologia e histologia muscular, assim como pela ação hormonal e tipo de dieta ingerida (RUBY & ROBERGS, 1994; EVEN et al., 1998). Neste estudo, observamos nos animais treinados, aumento na taxa de lipólise após 24 horas de repouso (tabela 9).

Resultados de outras pesquisas evidenciaram que, decorrente do exercício aeróbio de longa duração, realizado abaixo do limiar de lactacidemia, ocorre aumento da lipólise, sendo este efeito observado durante o exercício e nas primeiras horas de recuperação pós-exercício (BROOKS & MERCIER, 1994; RUBY & ROBERGS, 1994; BORSHEIM et al., 2000). Estas alterações do metabolismo lipídico explicam a redução no peso

relativo dos tecidos adiposos brancos RET e EPI dos animais alimentados com dieta hiperlipídica, sem concomitantes alterações no consumo alimentar, sugerindo um balanço energético negativo em resposta ao treinamento, uma vez que, o exercício físico per se promove maior consumo de nutrientes e oxigênio, aumentando o gasto energético, através do trabalho muscular. Tais resultados reforçam, portanto, a importância do exercício crônico moderado sobre a menor deposição de gordura ou adiposidade.

Em nosso estudo, os animais do grupo controle, já apresentavam os menores depósitos de gordura em relação aos demais grupos, desta forma, o exercício teve modesta redução nesta variável, uma vez que a gordura corporal desempenha função vital no organismo. Já nos animais alimentados com dieta cíclica, devido à grande oscilação da ingestão alimentar, o exercício físico não conseguiu ajustar a homeostase energética (tabela 4). Este dado sugere que a dieta hiperlipídica, mas não a cíclica, responde bem ao estímulo do exercício.

Vale salientar que após a lipólise pode ocorrer aumento tanto na taxa de oxidação, quanto de reesterificação dos AGL. (BAHR et al., 1990; BAHR et al., 1991; BORSHEIM et al., 1998), que pode acontecer intracelularmente (no próprio tecido adiposo) ou extracelularmente (no tecido hepático), liberando novas lipoproteínas e aumentando a concentração de triglicerídeos plasmáticos (WOLFE et al., 1990). Sendo assim, pelos resultados aqui apresentados, poderíamos sugerir que nos animais treinados

tenha ocorrido aumento da oxidação dos ácidos graxos, uma vez que não observamos dislipidemia nos animais (tabela 6).

De fato, Bernardes (2003) ao analisar a concentração de TG no plasma, em resposta ao treinamento, observou diminuição deste substrato após duas horas de recuperação, quando comparado ao repouso, para os grupos alimentados com a mesma dieta hiperlipídica utilizada em nosso estudo. Este resultado demonstra que houve aumento da oxidação tanto dos ácidos graxos liberados pelo tecido adiposo, quanto dos triglicerídeos circulantes.

De acordo com estes resultados, recente estudo demonstrou que indivíduos sedentários apresentaram diminuição na concentração de triglicerídeos circulantes 24 horas após o exercício, não diferindo este resultado para normo ou hipercolesterolêmicos (GRANDJEAN et al., 2000).

Estes fatos poderiam explicar, ao menos em parte, a diminuição na concentração plasmática de TG em ratos treinados, alimentados com dieta hiperlipídica (25,4%) quando comparados aos ratos alimentados com dieta padrão (tabela 6).

É interessante ressaltar que, em animais treinados, a dieta hiperlipídica aumenta a capacidade de oxidação de lipídios pelo músculo (CHENG et al., 1997), e diminui o conteúdo lipídico no fígado (ESTADELLA et al., 2004). Além disto, ratos tratados com dieta hiperlipídica mobilizam mais lipídios do músculo esquelético do que animais alimentados com dieta padrão durante o exercício (PALOU, 1988).

Outro importante resultado observado, foi a elevação significativa da fração HDL, apenas observada no grupo controle em resposta ao treinamento, sugerindo aumento na capacidade de transporte reverso do colesterol. Este evento pode ser explicado devido ao fato de que em situação de sedentarismo os animais alimentados com dieta hiperlipídica e cíclica já apresentaram 20,6% e 7,4% respectivamente, maiores valores de HDL-c que o grupo controle. Estes resultados estão de acordo com achados na literatura, onde foi demonstrado que em resposta ao maior conteúdo de gordura na dieta em animais (KATAN, 1998) e em humanos (FUNG et al., 2001), ocorre concomitante aumento de todas as frações lipídicas, inclusive de HDL.

Neste sentido, Storlien et al. (1999) demonstraram que a gordura saturada é facilmente armazenada e dificilmente oxidada, uma vez armazenada, pode incorporar nas membranas plasmáticas, diminuindo a fluidez da membrana, facilitando a lipogênese, a proliferação de adipócitos e reduzindo a termogênese. Outros estudos também registraram que dietas hiperlipídicas (cafeteria ou outras) aumentaram os estoques de gordura corporal em animais experimentais (MANDENOFF et al., 1982; BARBER et al., 1985; GAÍVA et al., 2001; BELLAVÉR et al., 2001). De fato, no presente estudo foram demonstradas várias respostas metabólicas e hormonais em resposta à dieta rica em lipídios.

Nossos resultados demonstraram que ambas intervenções dietéticas com alimentos hiperlipídicos, aumentaram significativamente os



pesos dos tecidos RET e EPI quando comparados ao grupo de SP. Entretanto maiores valores foram observados no grupo SH quando comprado ao SC. Rozen et al. (1994) e Estadella et al. (2004), reportaram que a prática sucessiva de ciclos de restrição e realimentação rica em gordura diminui a utilização de oxigênio, levando ao mesmo percentual de gordura causado pela contínua alimentação hiperlipídica. Contrariamente, Reed et al. (1988) demonstraram que ratos submetidos a ciclos sucessivos de carboidrato e gordura ou de restrição alimentar e “ad libitum” aumentaram a ingestão alimentar e se tornaram mais obesos que os ratos que não foram submetidos a ciclos alimentares. O fato deste estudo ter durado maior tempo, 31 semanas, que o nosso pode responder as diferenças observadas.

A dieta palatável hiperlipídica e a dieta cíclica (SH e SC) diminuíram a lipogênese do RET e do EPI. Quanto a isto, foi observado que manipulações dietéticas, hormônios e citocinas induzem respostas metabólicas distintas em diferentes depósitos de gordura (POND, 1999). Dietas ricas em gordura reduziram a atividade de enzimas lipogênicas nos tecidos adiposos brancos retroperitoneal e inguinal (GAÍVA et al., 2001; ROTHWELL et al., 1983), no entanto, aumentaram a atividade da lipase lipoprotéica (LPL) no tecido adiposo visceral (ROBERTS et al., 2002). Outros autores observaram em resposta à dieta hiperlipídica ausência de aumento na  $\beta$ -oxidação (MURASE et al., 2002) e aumento do conteúdo lipídico no fígado (ESTADELLA et al., 2004). Exposição crônica à dieta hiperlipídica

pode afetar variáveis em múltiplos níveis de controle, podendo causar obesidade. Nisto inclui-se a palatabilidade e outras qualidades sensoriais físico-químicas dos alimentos ricos em gordura, o processo gastrintestinal dos lipídeos, a geração e recepção de sinais relacionados aos alimentos que controlam a ingestão alimentar e metabolismo (Woods et al., 2003).

No estado pós-prandial observa-se em ex obesos, decréscimo da oxidação de lipídios e supressão da lipólise, quando dietas contendo alta quantidade de lipídios são consumidas (RABEN *et al.*, 1993), podendo explicar a tendência ao balanço energético positivo, onde nesta situação seria imprescindível a prática regular de exercícios.

Sabe-se que a obesidade pode ser também decorrente de defeitos termogênicos, neste sentido o tecido adiposo marrom (TAM) apresenta importante função na termogênese, devido à presença das proteínas mitocondriais desacopladoras (UCP) (FRAYN et al., 1994; CANNON et al., 1999).

Com relação à função das proteínas desacopladoras (UCPs) sabe-se que essas pertencem a uma família de transportadores da membrana interna da mitocôndria que dissipam o gradiente de próton e liberam a energia estocada na forma de calor. Desta família, a UCP1 é especificamente expressa no tecido adiposo marrom, a UCP2 é amplamente expressa no organismo, a UCP3 é predominantemente expressa no músculo esquelético, mas também é encontrada no TAM; a UCP4 e a UCP5 são

expressas principalmente no cérebro (RABELO, 2001; SCHOELLER, 2001; ERLANSON & ALBERTSSON, 2002).

No presente estudo, verificou-se que o peso relativo do TAM foi significativamente maior nos animais alimentados com a dieta hiperlipídica e tendeu a aumento nos grupos alimentados com dieta cíclica (tabela 4). Outros estudos verificaram acentuado desenvolvimento do TAM em animais alimentados com dieta de cafeteria (ROTHWELL et al., 1985; SMITH et al., 2000), este incremento de peso é resultante de hiperplasia e/ou diferenciação dos adipócitos (TULP et al., 1982) e é caracterizado pelo aumento na quantidade de proteínas mitocondriais desacopladoras, principalmente UCP1, que possui atividade termogênica, dissipando o gradiente de próton da fosforilação oxidativa, produzindo calor (MARGARETO et al., 2001).

Conforme será discutido adiante, observou-se aumento na concentração de leptina, hormônio que aumenta a termogênese, devido ao incremento das proteínas mitocondriais desacopladoras (UCPs) no tecido adiposo marrom (TAM), sendo este efeito mediado pelos receptores  $\beta$ 3-adrenérgicos (SCARPACE et al., 1998; MARGARETO et al., 2001). Sendo assim, o aumento nos estoques de gordura induzido por dietas hipercalóricas produz elevação nos níveis séricos de leptina, podendo ocasionar elevação na atividade do TAM.

Independentemente da dieta utilizada, o treinamento moderado de natação aumentou os pesos absoluto e relativo do TAM (tabelas 3 e 4). De acordo com dados apresentados por nosso laboratório, este resultado está associado a aspectos relacionados à manutenção da temperatura corporal durante o treino de natação e, principalmente, durante a secagem do corpo dos animais após as sessões de exercício (CHEIK, 2002), prova disto é o fato de que, o exercício realizado em esteira rolante não aumentou o peso do TAM (PAVAN, 2000).

Pesquisas científicas têm verificado significativo aumento na concentração de norepinefrina circulante mesmo após o exercício (BAHR et al., 1990) e estudos sobre receptores adrenérgicos têm demonstrado que a dieta de cafeteria produz adipócitos marrons menos responsivos ao estímulo *in vitro*, devido ao estímulo crônico dos receptores (SCHIMMEL et al., 1985). Este resultado sugere, que na presente pesquisa, a dieta hiperlipídica, e em menor magnitude a dieta cíclica, possam ter causado alterações da termogênese nos animais. Sugerimos também que os animais do grupo TH e TC, tenham sido menos responsivos ao aumento na concentração de norepinefrina circulante durante e após o exercício.

Em relação ao tecido adiposo branco, podemos destacar que, observamos aumento significativo nas áreas e nos diâmetros dos adipócitos deste tecido (RET e EPI), em ratos dos grupos SH e SC em relação ao grupo alimentado com dieta padrão (SP) (tabela 7, figuras 9 e 10). Valendo ressaltar que comparando os animais alimentados com dieta hiperlipídica de

forma contínua aos alimentados de forma cíclica, o grupo que ingeriu maior quantidade de lipídeos (SH) teve aumento nesta variável. Esta hipertrofia dos adipócitos, provavelmente, ocorreu devido às já citadas alterações que ocorrem no metabolismo lipídico dos animais obesos, bem como em resposta às propriedades sensoriais e físico-químicas dos lipídeos.

Segundo outros relatos da literatura, o tamanho do tecido adiposo é regulado pelo balanço energético e a ingestão de dieta hiperlipídica ou hiperglicídica estimula a hiperinsulinemia, hipertrofia e hiperplasia do tecido adiposo (FAUST & MILLER, 1981; GELOÉN *et al.*, 1989). O que constitui forte componente estimulador do desenvolvimento de várias doenças crônicas degenerativas.

Assim, a redução significativa na área e diâmetro dos adipócitos (tabela 7, figuras 9 e 10) em resposta ao treinamento, em animais que receberam diferentes tipos de dieta, representa um importante resultado do presente estudo, uma vez que em resposta ao exercício ocorreu, efetivamente, menor armazenamento de gordura central (tecido adiposo epididimal e retroperitoneal).

Hoje sabe-se que, o tecido adiposo é um importante órgão endócrino, pois secreta inúmeras citocinas, hormônios, pro-hormônios e enzimas que possuem ação auto/parácrina, controlando o metabolismo e a regulação neural da ingestão alimentar por ação da leptina (MOHAMED-ALI *et al.*, 1998; TRAYHURN & BEATTIE, 2001). Em animais saudáveis

(MAFFEI et al. 1995), bem como em humanos (CONSIDINE et al. 1996), as concentrações circulantes de leptina estão altamente correlacionadas ao percentual de gordura presente no organismo.

Este hormônio atravessa a barreira hemato-encefálica e interage com neurônios hipotalâmicos diminuindo a ingestão alimentar e estimulando a termogênese (SCHWARTZ et al. 2003). A isoforma fisiologicamente ativa do receptor de leptina (LEPR) é expressa principalmente em neurônios hipotalâmicos (CANCELLO et al., 2004). Foram descritas várias vias de sinalização cerebral da leptina, porém o núcleo arqueado aparentemente tem função crucial (MURPHY & BLOOM et al. 2001).

Existem dois principais locais no núcleo arqueado envolvidos na regulação da ingestão alimentar: região anorexígena, composta por neurônios produtores de proopiomelanocortina (POMC) e a região orexígena, formada por neurônios produtores de neuropeptídeo Y (NPY) e proteínas relacionadas ao agouti (AGRP) (MURPHY & BLOOM et al. 2001). A leptina ativa globalmente os neurônios anorexigênicos enquanto inibe os neurônios orexigênicos.

Neste estudo, ambos tratamentos com dieta hiperlipídica causaram hiperleptinemia, no entanto a leptina sérica bem como peso, diâmetro e área dos tecidos adiposos brancos (RET e EPI) estavam mais elevados nos animais alimentados continuamente com esta dieta. Além destes fatores, Attoub et al. (1999) mostraram que a gastrina/colecistocinina

(CCK) endógena está envolvida na regulação a longo prazo da expressão e secreção de leptina em ratos através da ativação do receptor de gastrina/CCK-B presente nos adipócitos.

Vale ressaltar que, com exceção das formas raras de obesidade monogênicas devido à deficiência genética de leptina, onde se desenvolve a obesidade severa, a maioria dos casos de obesidade geralmente está associada a elevados níveis de leptina. Em ratos, Lin et al. (2000) reportaram perda de sensibilidade à leptina sistêmica após 8 semanas, mas não após 1 semana, de dieta hiperlipídica. Outros investigadores elucidaram baixa sensibilidade de leptina em ratos obesos por indução dietética (WIDDOWSON et al., 1997). Nossos resultados estão de acordo com esses dados, sugerindo-se que na presente pesquisa possa ter ocorrido diminuição da sensibilidade à leptina, contribuindo assim para a diminuição da lipólise no RET e EPI, bem como, ausência de hipofagia nos animais alimentados com dieta hiperlipídica.

A origem da resistência à leptina ainda permanece por ser descoberta. Foram realizadas várias suposições na tentativa de explicar o mecanismo de ação da resistência à leptina e a ineficiência do tratamento farmacológico com este hormônio em pacientes e animais obesos. A hipótese de que a resistência à leptina esteja relacionada à diminuição do transporte de leptina para o sistema nervoso central (SNC) foi sugerida desde quando descobriu-se que animais e pessoas obesas possuem menores níveis de leptina no fluido cerebrospinal que no plasma (CARO,

et al. 1996). Sabe-se que o mecanismo de transporte de leptina é saturado com baixas concentrações deste hormônio no plasma, o que poderia limitar os efeitos da leptina quando administrada periféricamente.

Os eventos moleculares relacionados aos receptores hipotalâmicos para leptina são, também, alvo de novas pesquisas (EL-HASCHIMI et al. 2000). O acoplamento da leptina com o receptor longo, ativa a família janus kinase (Jak2) que promove a translocação do STAT3 ao núcleo, onde regula a transcrição gênica. Concomitantemente, a ativação do receptor de leptina induz a expressão de SOCS-3 (suppressor of cytokine signaling). Enquanto as pesquisas ainda estão por elucidar possíveis alterações no mecanismo de sinalização JAK-STAT, a atividade excessiva de SOCS-3, que irá inibir a via de sinalização da leptina, está sendo aceita pela comunidade científica como um mediador potencial da resistência à leptina observada comumente na obesidade (BJORBAEK et al., 1998).

Hoje sabemos que para a leptina ter potencial terapêutico é necessário modificar o sistema de transporte, com a finalidade de promover elevação na quantidade de leptina no líquido cerebrospinal e ainda elucidar alguma forma de desensibilizar os receptores para leptina (BJORBAEK et al., 1998).

As pesquisas que relacionam leptina plasmática e exercício, apresentam resultados conflitantes. No presente estudo, não houve alteração significativa do nível plasmático de leptina após 24 horas de exercício, no entanto, observamos redução percentual nos animais alimentados com dieta



padrão (47%) e cíclica (8%), quando comparados aos respectivos grupos sedentários. Esses achados estão de acordo com o resultado apresentado por Essig et al. (2000), que reportaram redução de 30% na concentração de leptina, 48 horas após o exercício; e Tuominen et al. (1997), que encontraram 34% de diminuição da leptina sérica, 44 horas após um período de 02 horas de exercício realizado a 75% do VO<sub>2</sub> max.

Ishii *et al.* (2001) demonstraram que o treinamento aeróbio de seis semanas com uma amostra de 50 diabéticos insulino não dependentes, consistindo de uma hora de caminhada e bicicleta ergométrica a 50% do VO<sub>2</sub> max., reduziu a concentração de leptina. Ainda, segundo Pérusse *et al.*, 1997, os níveis plasmáticos deste hormônio diminuíram após 20 semanas de programa de *endurance* e após a ultra maratona (LANDT *et al.*, 1997).

Contrariamente, estudos que examinam o efeito agudo, da sessão de treinamento no nível plasmático de leptina não têm encontrado alterações nesta variável. Dirlewanger *et al.* (1999), não reportaram queda na concentração de leptina plasmática em resposta ao exercício moderado realizado durante um período de três dias. Em outro estudo Pérusse *et al.* (1997) mediram a leptina plasmática antes e após 12 minutos de cicloergometria a 50 W, e imediatamente após o alcance do esforço máximo. Estes autores também não encontraram diferenças na leptina plasmática comparada com a secreção basal.

Revisando a literatura, observamos que os níveis plasmáticos de leptina não se alteram em resposta aguda ao exercício (HICKEY *et al.*, 1996; LANDT *et al.*, 1997; PÉRUSSE *et al.*, 1997). Entretanto, em resposta crônica ocorreu redução desta variável e na maioria das vezes estes resultados foram atribuídos à perda de massa gorda. No entanto, futuras pesquisas são necessárias para averiguar o impacto direto do exercício físico na expressão do gene *ob* e secreção de leptina, independentemente dos efeitos do exercício no balanço energético, só assim poderemos compreender de fato, a implicação do exercício na secreção desse hormônio.

Um outro regulador, a longo prazo, da ingestão alimentar e estoque energético é a insulina (VOLK *et al.*, 1999). Animais que possuem deficiência na produção de insulina são hiperfágicos (SIPOLS *et al.*, 1995). Sabe-se que a insulina plasmática é transportada até o fluido cerebroespinal por um mecanismo saturado e exerce seus efeitos através do acoplamento a receptores específicos (OBICI *et al.*, 2002). Foram identificados vários receptores de insulina em muitas áreas do cérebro, particularmente o núcleo arqueado do hipotálamo, envolvidas na regulação do comportamento alimentar e dispêndio energético (CANCELLO *et al.*, 2004). Ratos com deleção (knock-out) do receptor de insulina e leptina aumentam a ingestão alimentar e apresentam acentuado ganho de peso corporal (BRUNING *et al.*, 2000).

Vários estudos proveram evidências para a função da insulina na expressão do gene ob (SALADIN et al., 1995; SEGAL et al., 1996). Este achado está de acordo com o aumento exacerbado da insulina e leptina plasmática observado nos animais, da presente pesquisa, alimentados com dieta hiperlipídica de forma cíclica ou contínua.

A insulina juntamente com a leptina ativa a liberação de hormônio estimulante dos melanócitos  $\alpha$  ( $\alpha$ -MSH) e inibe os neurônios hipotalâmicos produtores de NPY e AGRP (BENOIT et al., 2000), além de aumentarem expressão da POMC (BRUNING et al., 2000), controlando a ingestão alimentar e a homeostase energética.

Como a síndrome de resistência à insulina possui estreita relação com a obesidade, novas pesquisas vêm elucidando as inúmeras adipocitocinas que poderiam estar associadas, dentre as quais podemos destacar: interleucina 6 (IL-6), fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), resistina e adiponectina (CANCELLO et al., 2004). Esta produção é mais elevada na gordura visceral, que é mais resistente à ação da insulina, que na gordura subcutânea (ARNER, 2003). Já os níveis plasmáticos de adiponectina estão negativamente correlacionados à obesidade, pois a expressão de seu RNAm está significativamente reduzida no tecido adiposo de ratos obesos e de humanos (KRAEMER et al., 2003).

Yamauchi et al. (2001), demonstraram que a infusão sistêmica e contínua de uma dose fisiológica de adiponectina recombinante reduziu

significativamente a hiperinsulinemia em ratos, invertendo a resistência à insulina. Em recente artigo, foi documentado que insulina, catecolaminas e cortisol suprimem a expressão gênica de adiponectina (FASSHAUER, 2002).

De acordo com o exposto, podemos sugerir que no presente estudo, os animais alimentados com dieta hiperlipídica, desenvolveram resistência à insulina, pois a hiperinsulinemia, a hiperglicemia, o aumento da área e diâmetro dos adipócitos e o peso dos tecidos adiposos são argumentos que dão suporte a esta hipótese.

Sabe-se que a família de fatores de transcrição designada SREBP (sterol regulatory element-binding proteins), regula a homeostase dos lipídeos (EDWARDS et al., 2000; SAKAKURA et al., 2001). SREBPs ativam diretamente a expressão de aproximadamente 30 genes que se dedicam à síntese e captação de colesterol, ácido graxo, triglicerídeos e fosfolipídeos. No fígado, três SREBPs regulam a produção de lipídeos, SREBP-1c aumenta preferencialmente a transcrição de genes envolvidos na síntese de ácidos graxos, entre eles a acetil CoA carboxilase (ACC), que converte a acetil CoA em malonil CoA e a ácido graxo sintetase (FAS), que converte a malonil CoA em palmitato.

A insulina estimula a síntese de ácido graxo no fígado na presença de excesso de carboidratos. Várias evidências sugerem que esses efeitos da insulina são mediados pelo aumento do SREBP-1c (FORETZ et al., 1999; SHIMOMURA et al., 1999a). In vivo, a quantidade total de SREBP-1c no fígado é reduzida pelo jejum, que suprime a secreção de insulina, e

aumenta com a realimentação (SHIMOMURA et al., 1999b). De forma semelhante, os níveis de RNAm do SREBP-1c diminuem em animais com diabetes induzido por estreptozotocina e aumentam após tratamento com insulina. A hiperexpressão do SREBP-1c, em fígado de animais transgênicos, previne a redução do RNAm das enzimas lipogênicas.

Indivíduos que apresentam obesidade e resistência à insulina podem desenvolver esteatose hepática, pois o acúmulo de SREBP-1c, em resposta aos altos níveis circulantes de insulina, pode causar esteatose hepática. De maneira semelhante, os níveis de SREBP-1c estão elevados no fígado de camundongos ob/ob (SHIMOMURA et al., 1999 b). Apesar da presença de resistência à insulina nos tecidos periféricos, a insulina continua a ativar a transcrição do SREBP-1c no fígado desses camundongos. O nível elevado de SREBP-1c aumenta a expressão de genes lipogênicos, a síntese de ácidos graxos e o acúmulo de triglicerídeos (SHIMOMURA et al., 2000).

Nos adipócitos, a insulina também reduz a lipólise através da inibição da lipase hormônio sensível. Esta enzima é ativada pela PKA (proteína quinase A). A insulina inibe a atividade da PKA, ativando a fosfodiesterase AMP cíclico específica (PDE3B), que reduz os níveis de AMP cíclico nos adipócitos (SHIMOMURA et al., 1999).

A insulina inibe a gliconeogênese e glicogenólise, além de estimular o acúmulo de glicogênio através do aumento do transporte de glicose no músculo e a glicogênese hepática e muscular. Este último efeito é obtido via desfosforilação da glicogênio-sintetase. Após estímulo com

insulina a Akt fosforila e inativa a GSK-3, o que diminui a taxa de fosforilação da glicogênio-sintetase aumentando sua atividade (CROSS et al., 1995). A insulina também ativa a proteína fosfatase 1, por um processo dependente da PI 3-quinase, que desfosforila a glicogênio sintetase diretamente (BRADY et al., 1997).

Na neoglicogênese, a insulina inibe diretamente a transcrição de genes que codificam a fosfoenolpiruvato carboxiquinase (PEPCK), enzima chave no controle desse processo. O hormônio também diminui a taxa de transcrição do gene que codifica a frutose-1,6-bifosfatase e a glicose 6 fosfatase e aumenta a transcrição de genes de enzimas glicolíticas como a glicoquinase e a piruvato quinase (SUTHERLAND et al., 1996). As vias de sinalização que regulam a transcrição desses genes permanecem desconhecidas.

Outro importante resultado encontrado em nosso estudo foi o tratamento terapêutico do treinamento moderado de natação nos animais hiperinsulinêmicos, pois observamos redução significativa nos níveis plasmáticos de insulina quando comparamos ratos treinados e alimentados com dieta hiperlipídica e cíclica aos respectivos grupos sedentários.

Neste sentido, podemos sugerir que alguns mecanismos fisiológicos resultantes do treinamento possam ter culminado em melhora da tolerância à glicose e na ação da insulina. Rice et al., 1999, após estudarem a associação de exercícios aeróbicos à dieta, concluíram ser o exercício uma estratégia interessante, pois reduziu os níveis de insulina e glicose,

aumentou o GLUT 4, a capilarização muscular, a atividade da hexoquinase, o fluxo sanguíneo muscular, assim como melhorou os estoques de glicogênio.

A redução dos níveis plasmáticos de insulina, evidenciada no presente estudo, sugere que o decréscimo da sensibilidade aos receptores  $\beta$ -adrenérgicos na promoção de lipólise, geralmente encontrada em obesos, pode ser melhorada pelo treinamento. Além disso, encontrou-se significativo aumento na atividade do receptor  $\beta$ 1- adrenérgico, mas não para o  $\beta$ 2, indicando especificidade do treinamento em aumentar lipólise. Uma vez que também encontrou-se diminuição na atividade do receptor  $\alpha$ 2- adrenérgico, sugere-se que a lipogênese encontra-se diminuída após treinamento (GLISEZINSKI et al., 1998). De fato, como previamente reportado, observamos em nosso estudo redução na taxa de lipogênese do RET e EPI em animais alimentados com dieta padrão e hiperlipídica, o que não foi observado em resposta à dieta cíclica, sugerindo a necessidade de um tempo de adaptação do organismo para alterar as vias lipogênicas em relação aos estímulos do exercício físico e da alimentação.

Desta forma, resultante da diminuição da área e diâmetro dos adipócitos, muito provavelmente ocorreu também redução nos níveis circulantes do TNF- $\alpha$ , IL-6, resistina, além de elevação na concentração sérica da adiponectina, diminuindo a resistência à insulina. Vale ressaltar ainda, que todos estes elementos, associados ao decréscimo do PAI-1,

contribuem também para redução da agregabilidade plaquetária, melhorando a função endotelial e prevenindo a trombogênese e aterosclerose, patologia que está intimamente relacionada à obesidade.

Outro hormônio relacionado com a regulação central da ingestão alimentar é a grelina (Altman, 2002). As variações da grelina plasmática são opostas às observadas na leptina, em resposta à alimentação observa-se elevação dos níveis deste hormônio. A grelina promove modulação nos neurônios produtores de NPY, de AGRP (Kamegai *et al.*, 2000) e da POMC (Altman, 2002). Van der Lely *et al.* (2004), postularam que os mecanismos envolvidos na secreção de grelina estão claramente associados a uma sinalização derivada dos adipócitos. Em nosso estudo verificamos que os animais que apresentaram hipertrofia de adipócitos, exibiram redução percentual nos níveis circulantes deste hormônio.

A ingestão alimentar constitui o regulador primário de grelina (Tschop *et al.*, 2000). Estudo realizado em roedores demonstrou que, a dieta hiperlipídica reduz a expressão e secreção de grelina pelo estômago (Beck *et al.*, 2002) e há evidências de que a insulina é capaz de suprimir a secreção de grelina (Yoshihara *et al.*, 2002). Administrada centralmente em ratos, este hormônio aumenta a ingestão lipídica e adiposidade em roedores por mecanismos múltiplos, como o aumento no consumo alimentar e redução da oxidação lipídica (Tschop *et al.*, 2000). Pesquisas recentes reportam diminuição nos níveis circulantes de grelina em indivíduos obesos (Tschop *et*



*al.*, 2001; Hansen *et al.*, 2002). Esta associação negativa é interpretada por vários estudiosos, como uma resposta fisiológica adaptável (Horvath *et al.*, 2001), que falha ao tentar restabelecer o equilíbrio energético apropriado (Tschop *et al.*, 2001). Nossos resultados concordam com esses achados, considerando que observamos redução dos níveis de grelina nos grupos SC e SH quando comparados ao grupo alimentado com dieta padrão.

Quanto ao efeito do exercício nesta variável, observamos diminuição percentual no grupo alimentado com dieta hiperlipídica, e aumento dos níveis plasmáticos de grelina nos animais alimentados com dieta padrão, quando comparados aos respectivos grupos sedentários. Os dados da literatura acerca deste parâmetro, são ainda, conflitantes. Leidy *et al.* (2004), evidenciaram que, após 3 meses de tratamento com dieta e exercício físico, em mulheres eutróficas a grelina responde de forma compensatória para ajustar as mudanças da homeostase energética.

Outro estudo realizado com pacientes obesos severos, reportou que posteriormente a 3 semanas de um programa integrado de exercício físico e prescrição dietética, observou-se redução de 5% do peso corporal, o que não foi suficiente para normalizar os níveis suprimidos de grelina nestes pacientes (Morpurgo *et al.*, 2003).

Em recente pesquisa realizada por Foster-Schubert *et al.* (2005), foi observado que resultante do treinamento aeróbio, realizado durante 3 e 12 meses, os níveis plasmáticos de grelina aumentaram 18%

quando as voluntárias emagreceram mais de 3 kg. Estes dados são consistentes com a função da grelina na resposta adaptativa no controle do peso corporal.

Schmidt et al., 2004, demonstraram que a concentração de grelina plasmática não altera em resposta aguda ao exercício realizado em diferentes intensidades (50%, 70% e 90% do VO<sub>2</sub>max). Os resultados de Kraemer et al. (2004), estão de acordo com estes achados, onde se observou que o exercício realizado a 60%, 75%, 90% e 100% do VO<sub>2</sub>max., não promoveu alteração nos níveis de grelina, no entanto, aumentou a secreção de GH e IGF-1 (fator de crescimento semelhante a insulina), o que indica que a grelina sistêmica não está envolvida com a secreção de GH induzida pelo exercício e ainda que este hormônio pode realizar feedback negativo, inibindo a liberação de grelina (Dall et al., 2002).

Portanto, os resultados observados no presente estudo demonstraram que, decorrente da manipulação dietética e realização de exercícios físicos observamos importantes alterações metabólicas e hormonais, que refletiram no ganho de peso do tecido adiposo.

## **7. CONCLUSÃO**

O presente estudo, dentre outros parâmetros, demonstrou que os animais alimentados com dieta hiperlipídica, de forma contínua ou cíclica, apresentaram ganho de massa corporal e adiposidade, evidenciados aqui, pela hipertrofia dos adipócitos e aumento de peso dos tecidos adiposos. Apesar de não exibirem hiperfagia, os animais aumentaram a ingestão calórica, quando alimentados com ambos protocolos de dieta hiperlipídica.

O aumento na ingestão lipídica resultou em diminuição na taxa de lipogênese dos tecidos adiposos. Quando a dieta foi modificada, alternado-se entre baixos e altos teores lipídicos, esta variável não reduziu significativamente.

Quanto à regulação hormonal da ingestão alimentar e balanço energético, em animais com dieta modificada, observou-se elevação da leptina plasmática, em resposta à dieta cíclica e à hiperlipídica, sendo este efeito acompanhado pela elevação na concentração plasmática de insulina e hipertrofia de adipócitos, fatores estes que poderiam ser responsáveis por esta hiperleptinemia.

Devido ao exacerbado aumento de leptina, sugerimos que ambos protocolos de dietas hiperlipídicas aqui utilizados, provavelmente tenham induzido, em situação experimental, diminuição da sensibilidade à leptina sistêmica, após 8 semanas de tratamento, o que pode ter sido responsável pela manutenção da taxa lipolítica no RET e EPI, bem como, pela ausência de hipofagia nos animais sedentários do grupo SH e SC.

A produção elevada de adipocitocinas resultante da obesidade, pode ter contribuído para a hiperinsulinemia observada nos animais alimentados continuamente e alternadamente, com dieta hiperlipídica. Como efeito crônico do treinamento, verificou-se, redução significativa da concentração plasmática de insulina, nos grupos TH e TC, quando comparados aos respectivos grupos sedentários. Este efeito pode indicar melhora de sensibilidade à insulina, uma vez que, com baixos níveis plasmáticos deste hormônio, ocorreu diminuição do alto índice glicêmico observado no grupo TH, indicando que o exercício físico pode prevenir, ou ainda reverter, o desenvolvimento do diabetes mellitus insulino não dependente.

Nos grupos exercitados e alimentados com dieta hiperlipídica (TH e TC) observou-se também, redução da área e diâmetro dos adipócitos, aumento da lipólise e diminuição da lipogênese dos tecidos RET e EPI, além de redução percentual de grelina e leptina.

A partir dos resultados obtidos, observamos que as dietas, hiperlipídica e cíclica, promoveram hipertrofia dos adipócitos, redução na

taxa de lipogênese, hiperinsulinemia e hiperleptinemia. Por outro lado, o exercício contínuo promoveu importantes ajustes metabólicos e endócrinos, podendo ser utilizado como fator coadjuvante na prevenção e controle da obesidade e suas co-morbidades.

No entanto, futuras pesquisas são necessárias para elucidar a modulação direta do exercício na expressão gênica e secreção de grelina e leptina, independentemente do balanço energético.

## **8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- ABDUL-RAHIM, H.F.; HUSSEINI, A.; BJERTNESS, E.; GIACAMAN, R.; GORDON, N.H.; et al. The Metabolic Syndrome in the West Bank Population an urban-rural comparisom. Diabetes Care. v.24, nº2, p.275-279, 2001.**
- ALTMAN, J. Weight in the balance. Neuroendocrinology, v. 76, p.131-136, 2002.**
- ASTRUP, A.; BRAY, G.; GUY-GRAND, B.; MACDONALD, A.; RAVUSSIN, E.; et al. The Simpathetic Nervous System. In: Obesity, by Colwood House Medical Publications (UK) Limited, the Mitfords, Basingstake Road, Thee Mile Cross, Reading, Berkshire. UK, 1998.**
- ARITA, Y.; KIHARA, S.; OUCHI, N.; TAKAHASHI, M.; MAEDA, K.; et al. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. Biochem Biophys Res Commun, v. 257, p.79–83, 1999.**
- ARIYASU, H.; TAKAYA, K.; TAGAMI, T. Stomach is a major source of circulating ghrelin, and feeding state determines plasma ghrelin-like immunoreactivity levels in humans. J. Clin. Endocrinol. Metab., v. 86, nº47, p.53-58, 2001.**
- ARNER, P. The adipocyte in insulin resistance: key molecules and the impact of the thiazolidinediones. Trends Endocrinol Metab. , v. 14, p.137-142, 2003.**
- ARVAT, E; DI VITO, L.; PAPOTTI, M. Preliminary evidence that ghrelin, the natural GH secretagogue (GHS)-receptor ligand, strongly stimulates GH secretion in humans. J Endocrinol Invest, v. 23, p. 493-495, 2000.**
- ASTRAND, P.O. “Why exercise?” Med. Sci. Sports Exerc., v. 24, nº 2, p.153-162, 1992.**

- ATTOUB, S.; LEVASSEUR, S.; BUYSE, M.; GOÏOT, H.; LAIGNEAU, JP.; MOIZO, L.; et al. Physiological Role of Cholecystokinin B/Gastrin Receptor in Leptin Secretion. *Endocrinology* , v. 140, nº 10, p.406-410, 1999.**
- BAGNASCO, M.; KALRA, P.S.; KARRA, S.P. Ghrelin and leptin pulse discharge in fed and fasted rats. *Endocrinology*, v. 143, nº 2, p. 726-729, 2002.**
- BAHR, R.; HANSSON, P.; SEJERSTED, O. Triglyceride/fatty acid cycling is increased after exercise. *Metabolism.*, v. 39, nº 9, p.993-999, 1990.**
- BAHR, R.; HØSTMARK, A.T.; NEWSHOLME, GRØNNERØD, O.; SEJERSTED, O. Effect of exercise on recovery changes in plasma levels of FFA, glycerol, glucose and catecholamines. *Acta. Physiol. Scand.*, v. 143, p. 105-115, 1991.**
- BARBER, T.; VIÑA, J.R.; VIÑA, J.; CABO, L. Decreased urea synthesis in cafeteria-diet-induced obesity in the rat. *Biochem. Journal.*, v. 230, p. 675-681, 1985.**
- BARSH, G.S.; FAROOQI, I.S.; O'RAHILLY, S. Genetics of body-weight regulation. *Nature*, v. 404, p.644-651, 2000.**
- BECK, B. MUSSE N & STRICKER-KRONGRAD. Ghrelin, macronutrient intake and dietary preferences in long-evans rats. *Biochemical and Biophysical Research Communications* , v. 292, nº 4, p.1031-1035, 2002.**
- BELLAVER, L.; VITAL, M.A.; ARRUDA, A.M.; BELLAVER, C. Efeitos da dietilpropiona, energia da dieta e sexo sobre o ganho de peso corporal, peso dos órgãos e deposição de tecidos em ratos. *Arquiv Bras de Endocrinol & Metabol*, v. 45, nº 2, p.167-172, 2001.**
- BELLONE, S.; RAPA, A.; VIVENZA, D.; CASTELLINO N.; PETRI, A.; et al. Circulating ghrelin levels as function of gender, pubertal status and adiposity in childhood. *J. Endocrinol. Invest*, v.25, nº 5, p.13-15, 2002.**
- BENOIT, S.; SCHWARTZ, M.; BASKIN, D. WOODS SC & SEELEY RJ. CNS melanocortin system involvement in the regulation of food intake. *Horm Behav.* , v. 37, p.299-305, 2000.**
- BERENSON, GS.; SRINIVASAN, SR.; BAO, W.; NEWMAN, WP.; TRACY, RE.; WATTIGNEY, WA. Association between multiple cardiovascular**

- risk factors and atherosclerosis in children and young adults. The Bogalusa heart study. *New Engl. J. Med.*, v. 338, p.1650-1656, 1998.
- BERGMAN, RN.** New concepts in extracellular signaling for insulin action: the single gateway hypothesis. *Recent Prog Horm Res* , v. 52, p. 359-385, 1997.
- BERGÖ, M.; OLIVECRONA, G.; OLIVECRONA, T.** Diurnal rhythms and effects of fasting refeeding on rat adipose tissue lipoprotein lipase. *Am. J. Physiol.* , v.271 (Endocrinol. Metab. 34): p.1092 –1097, 1996.
- BERNARDES, D.** Efeitos da dieta hipercalórica e do treinamento moderado de natação sobre o metabolismo de recuperação ao exercício em ratos machos adultos. São Carlos, Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas), UFSCar, 2003.
- BJORBAEK, C.; ELMQUIST, JK.; FRANTZ, JD.; SHOELSON, SE & FLIER JS.** Identification of SOCS-3 as a potential mediator of central leptin resistance. *Mol Cell*, v. 1, p.619-625, 1998.
- BJORNTORP, P.** Classification of obese patients and complication related to the distribution os surplus fat. *American Journal of Clinical Nutrition.* v. 45, p.1120-1125, 1987.
- BOLTON-SMITH, C.** Intake of sugars in relation to fatness and micronutrient adequacy. *International Journal of Obesity*, v.20 (suplem 2), p. 315-335, 1996.
- BONADONNA, R.C.L.C.; GROOP, K.; ZYCH, M.; SHANK, AND R.A. DEFRONZO.** Dose-dependent effect of insulin on plasma free fatty acid turnover and oxidation in humans. *Am. J. Physiol.* , v. 259, p.736-750, 1990.
- BOUCHARD, C.; BLAIR, S.N.** Introductory comments to the consensus on physical activity and obesity. *Medicine & Science in Sports & Exercise.* v. 31, (11 Suppl), p.498-501, 1999.
- BRADY, MJ.; NAIRN, A.C.; SALTIEL, A.R.** The regulation of glycogen synthase by protein phosphatase 1 in 3T3-L1 adipocytes. Evidence for a potential role for DARPP-32 in insulin action. *J Biol Chem*, v.272, nº 29, p.698-703, 1997.
- BRAY, GA.; POPKIN, BM.** Dietary fat intake does affect obesity! *Am. J. Clin. Nutr.* . v. 68, p. 1157-1173, 1998.



- BROOKS, G.A.; MERCIER, J.** Balance of carbohydrate and lipid utilization during exercise: The “crossover” concept. *J. Appl. Physiol.*, v.76, n<sup>o</sup>.6, p. 53-61, 1994.
- BROUNS, F. e VAN DER VUSSE, G.J.** Utilization of lipids during exercise in human subjects: metabolic and dietary constraints. *Br J Nutr.* , v.79, p.117-128, 1998.
- BRUNING, JC.; GAUTAM D & BURKS, DJ.** Role of brain insulin receptor in control of bodyweight and reproduction. *Science* , v.289, p. 2122-2125, 2000.
- BUCK, E.E.; FERNHALL, B.; MANFREDI, T.G.** Influence of exercise and cholesterol feeding on lipids and lipoproteins in rats. *J. Sports Med.* , v.29, p. 71–76, 1989.
- CALDER, P.** Lipids from Alpha to Omega. France: John Libbey, 1999.
- CAMPBELL, P. J., M. G. CARLSON, J. O. HILL, AND N. NURJHAN.** Regulation of free fatty acid metabolism by insulin in humans: role of lipolysis and reesterification. *Am. J. Physiol.* , v.263 (Endocrinol. Metab. 26), p.1063-1069, 1992.
- CAMPFIELD, L.A.; SMITH, F.J.; GUISEZ, Y.; DEVOS, R.; BURN, P.** Recombinant mouse OB protein: Evidence for a peripheral signal linking adiposity and central neural networks. *Science*, v. 269, p. 546-549, 1995.
- CANCELLO, R.; TOUNIAN, A.; POITOU C & K CLÉMENT.** Adiposity signals, genetic and body weight regulation in humans. *Diabetes Metab.* , v. 30, p. 215-227, 2004.
- CANNON, B.; MATTHIAS, A.; GOLOZOUBOVA, V.; OHLSON, K.B.E.; ANDERSON, U.; JACOBSSON, A.; NEDERGAARD, J.** Unifying and distinguishing features of brown and white adipose tissues: UCP1 versus other UCPs. In: Guy-Grand, B.; Aithaud, G. (org). *Progress in Obesity Research: Proceedings of the Eighth International Congress on Obesity.* John Libbey & Company Ltd. v. 8, p. 13-26, 1999.
- CARO, JF.; KOLACZYNSKI, JW & NYCE, MR.** Decreased cerebrospinalfluid/serum leptin ratio in obesity: a possible mechanism for leptin resistance. *Lancet* , v. 348, p.159-161, 1996.
- 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.*, v. 100, nº 2, p. 126-131, 1985.
- CATANIA, A.; AIRAGHI, L.; COLOMBO, G.; LIPTON, J.M. Alpha-melanocyte-stimulating hormone in normal human physiology and disease states. *Trends Endocrinol Metab.*, v. 11, p. 304-348, 2000.
- CEZAR, C.S. Níveis séricos e parâmetros antropométricos de adolescentes obesas pré e pós intervenção com exercício físico e controle alimentar, de forma combinada e isolada. Dissertação de Mestrado. UNIFESP-EPM, São Paulo, 1997.
- CHACRA, A.R. & DIB, S.A. Diabetes Mellitus. In: *Atualização Terapêutica*, Artes Médicas, 20<sup>o</sup> ed, p. 375-389, 2001.
- CHALLIS, B.G.; YEO GSH, FAROOQI, I.S.; LUAN, J.; AMINIAN, S.; HALSALL, DJ.; et al. The CART gene and human obesity: mutational analysis and population genetics. *Diabetes*, v. 49, p. 872-5, 2000.
- CHEIK, N.C. Efeitos do treinamento físico associado a um produto fermentado de soja na prevenção de dislipidemia e obesidade em ratos adultos machos alimentados com dieta padrão e hipercolesterolêmica. São Carlos, Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas), UFSCar, 2002.
- CHEIK, N.C.; VIANA. F.P.; ALEXANDRE, S.R.; DÂMASO, A.R. Dislipidemias. In: Dâmaso, A.R. *Nutrição e exercício na prevenção de doenças*. Rio de Janeiro: MEDSI, 2001.
- CHENG, B.; KARAMIZRAK, O; NOAKES, T. D.; DENNIS, S.C.; LAMBERT, E.V. Time course of the effects of a high-fat diet and voluntary exercise on muscle enzyme activity in Long-Evans rats. *Physiology Behav.*, v. 61, nº 5, p.701-5, 1997.
- CHRISTIE, A.W.; McCORMICK, D.K.T.; EMMISON, N.; KRAEMER, F.B.; ALBERTI, K.G.M.M.; YEAMAN, S.J. Mechanism of anti-lipolytic action of acipimox in isolated rat adipocytes. *Diabetologia*, v. 39, p. 45-53, 1996.
- COHEN, P. & FRIEDMAN, J.M. Leptin and the control of metabolism: Role for stearoyl-CoA desaturase-1 (SCD-1). *J Nutr.*, v. 134, p. 2455-2463, 2004.

- COLLINS, S.; KUHN, C.M.; PEDRO,A.E.; SWICK, A.G.; CHRUNYK, B.A.; SURWIT, R.S. Role of leptin in fat regulation. Nature, v.380, p.677-689, 1996.**
- CONE, RD. The central melanocortin system and energy homeostasis. Trends Endocrinol Metab. , v. 10, p. 211-216, 1999.**
- CONNOR, W.E.; LOWENSOHN R.; HATHER, L. Increases docosaheanoic acid levels inhuman newborn infants by administration of asrdines and fish oil during pregnancy. Lipids, v.31, p.183-187, 1996.**
- CONSIDINE, R.V.; SINHA, M.K. & HEIMAN, M.L. Serum immunoreactiveleptin concentrations in normal-weight and obese humans. N Engl JMed, v. 334, p. 292-295, 1996.**
- COUTINHO, W. Consenso Latino Americano de Obesidade. Federação Latino Americana de sociedades de obesidade. Arq. Bras. Endocrinol, v. 43, nº 1, p. 21-67, 1999.**
- COWLEY, M.A.; SMART, J.L.; RUBINSTEIN, M.; CÉRDAN, MG.; DIANO, S.; et al. Leptin activates anorexigenic POMC neurons through a neural network in the arcuate nucleus. Nature, v. 411, p. 480-444, 2001.**
- CROSS, D.A.; ALESSI, D.R.; COHEN, P.; ANDJELKOVICH, M.; HEMMINGS, B.A. Inhibition of glycogen synthase kinase-3 by insulin mediated by protein kinase B. Nature, v.378, p.785-789, 1995.**
- CUMMINGS, D.E.; PURNELL, J.Q.; FRAYO, R.S; SCHMIDOVA, K.; WISSE, B.E.; WEIGLE D.S. A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans. Diabetes, v. 50, p.1714-1719, 2001.**
- CUMMINGS, D.E.; WEIGLE, D.S.; FRAYO, R.S.; BREEN, P.A.; MA, M.K.; DELLINGER, P.; et al. Plasma ghrelin levels after diet-induced weight loss or gastric bypass surgery. N Engl J Med, v. 346, p. 1623-1630, 2002.**
- CUVELLO, L.C & PATIN, R. Restrição vs Reeducação Alimentar. In: Obesidade, DAMASO, A. MEDSI, p. 367-376, 2003.**
- DALE, A. E.; OBBERSTE-BERGMAUS, C.; MINNEMAN, T.; KAULBACH, H.C.; KAHN, B.B. Adipose specific reduction of GLUT 4 by Cre/lox P**

- gene targeting in transgenic mice results in glucose intolerance. *Diabetes Suppl.*, v1, p.66, 1998.
- DALL, R.; KANALEY, J.; HANSEN, T.K.; MOLLER, N.; CHRISTIANSEN, J.S, et al. Plasma ghrelin levels during exercise in healthy subjects and in growth hormone-deficient patients. *Eur J Endocrinol.* v.147, nº1, p.65-70, 2002.
- DÂMASO, A.R., et al. Obesidade: Subsídios para o desenvolvimento de atividades motoras. *Rev. Paul. de Educação Física*, v.8, n 1, p. 98-111, 1993.
- DÂMASO, A.R. Efeitos do exercício agudo e crônico sobre o metabolismo lipídico e a celularidade adiposa de ratas durante a lactação e 48 horas após o desmame. Tese (Doutorado em nutrição), UNIFESP-EPM, São Paulo., 1996.
- DÂMASO, A.R. (org.). Obesidade. Rio de Janeiro: Medsi: 2003.
- DAMIANI, D.; CARVALHO D.P.C.; OLIVEIRA R.G. Obesidade na infância – um grande desafio!. *Pediatria Moderna*, nº 36, p.489-528, 2000.
- DARIMONT, C.; VASSAUX, G.; GAILLARD, D.; AILHAUD, G.; NEGREL, R. In situ microdialysis of prostaglandins in adipose tissue: stimulation of prostacyclin release by angiotensin II. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* , v.18, nº12, p. 783-788, 1994.
- DATE, Y.; NAKAZATO, M.; HASHIGUCHI, S. Ghrelin is present in pancreatic alpha-cells of humans and rats and stimulates insulin secretion. *Diabetes*, v.51, p.124-129, 2002.
- DEL GIUDICE, E.; SANTORO, N.; CIRILLO, G.; D'URSO, L.; DI TORO, R.; PERRONE, L. Mutational screening of the CART gene in obese children: identifying a mutation (Leu34Phe) associated with reduced resting energy expenditure with obesity phenotype in a large family. *Diabetes*, v. 50, p. 2157-2160, 2001.
- DEL PRETE, E.; LUTZ, TA.; SCHARRER, E. Transient hypophagia in rats switched from high-fat diets with different fatty-acid pattern to a high-carbohydrate diet. *Appetite*, v. 34. p.137-146, 2000.
- DENADAI, R. C. Efeitos da atividade motora sobre a composição corporal, taxa metabólica basal e diária de adolescentes obesos. *Revista Paulista de Pediatria*, v. 14, nº 4, p.163-68, 1996.
- DESPRÉS, J.P. ; MOORJANI, S. ; LUPIEN, O.J. ; TREMBLAY, A. ; NADEAU, A. ; BOUCHARD, C. Regional distribution of body fat, plasma lipoproteins, and cardiovascular disease. *Arteriosclerosis*, v. 10, p. 497-511, 1990.

- DICKSON, S.L. Ghrelin: a newly discovered hormone. *Neuroendocrinology*, v.14, nº 1, p. 83-84, 2002.
- DIRLEWANGER, M. Effect of moderate physical activity on plasma leptin concentration in human. *European Journal Appl Physiol* , v. 79, p. 331-335, 1999.
- DUARTE, F.O. Adaptações Metabólicas a dois tipos de treinamento moderado de natação, contínuo e intermitente, em ratos machos adultos alimentados com dieta normocalórica e hipercalórica. São Carlos, Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas), UFSCar, 2001.
- DUBOIE, M.; GILLES, H. A; HAMILTON, J.K.; ROBERTS, P. A; SMITH, F. Colorimetric method for determinations of sugars and related substances. *Annal. Chem.* , v. 28, p. 350-358, 1956.
- EDWARDS, P.A.; TABOR, D.; KAST, H.R.; VENKATESWARAN, A. Regulation of gene expression by SREBP and SCAP. *Biochim Biophys Acta*, v.15, nº29, p.103-113, 2000.
- EGGSTEIN, M. & KREUTZ, F.H. Eine neue bestimmung der neutralfette im blutserum und gewebe: prinzip, durchfuhrung und besprechung der methode. *Klinische Wochenschrift* , v. 44, p. 262-267, 1966.
- EL-HASCHIMI, K.; PIERROZ, D.D.; HILEMAN, S.M.; BJORBAEK, C. & FLIER, J.S. Two defects contribute to hypothalamic leptin resistance in mice with diet induced obesity. *J Clin Invest* , v. 105, p.1827-1832, 2000.
- ENGLISH, P.J.; CHATEL, M. A.; MALIK, I. A.; BLOOM, S.R.; WILDING, J.P. Food fails to suppress ghrelin levels in obese humans. *Journal Clinical Endocrinology and Metabolism*, v. 87, nº 6, p. 2984, 2002.
- ERIKSSON, P.; REYNISDOTTIR, S.; LÖNNQVIST, E.; STEMME, V.; HAMSTEN, A.; ARNER, P. – Adipose tissue secretion of plasminogen activator inhibitor-1 in non-obese and obese individuals. *Diabetologia*, v. 41, p. 65-71, 1998.
- ESSIG, D. A.; et al. Delayed effects of exercise on the plasma leptin concentration. *Metabolism*, v. 49, p. 395-399, 2000.
- ESTADELLA, D. Efeitos da dieta de cafeteria e de ciclos alternados de dieta padrão com dieta de cafeteria sobre o metabolismo de ratos

- sedentários ou exercitados. Tese de Mestrado, UNIFESP/EPM, p. 81, 2001.
- ESTADELLA, D.; OYAMA, L.M.; DÂMASO, A.R.; RIBEIRO, E.B.; NASCIMENTO, C.M.O.** Effect of palatable hyperlipidic diet on lipid metabolism of sedentary and exercised rats. *Nutrition*, v. 20, p. 218-224, 2004.
- EVANOCHKO, W.T.; POHOST, G.M.** Structural studies of NMR detected lipids in myocardial ischemia. *NMR-Biomed.*, v. 7, nº 6, p. 269-277, 1994.
- EVEN, P.C.; RIETH, N.; ROSEAU, S.; LAURE-ACHAGIOTIS, C.** Substrate Oxidation during exercise in the rat cannot fully account for training-induced changes in macronutrients selection. *Metabolism*, v. 47, nº 7, p. 777-782, 1998.
- EXPERT PANEL ON DETECTION, EVALUATION, AND TREATMENT OF HIGH BLOOD CHOLESTEROL IN ADULTS.** Third report of the national cholesterol education program (NCEP). *Jama*, v. 285, p. 2486-2496, 2001.
- FALORNI, A.; BINI, V.; MOLINARI, D.; PAPI, F.; CELI, F. et al.** Leptin serum levels in normal weight and obese children and adolescents: relationship with age, sex, pubertal development, body mass index and insulin. *International Journal of Obesity*, v. 21, p. 881-890, 1997.
- FASSHAUER, M.; KLEIN, J.; NEUMANN, S.; ESZLINGER, M.; PASCHKE, R.** Hormonal regulation of adiponectin gene expression in 3T3-L1 adipocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, v. 290, p.1084-1089, 2002.
- FAUST, I.M.; MILLER, W.H.** Effects of diet and environment on adipocyte development. *Int. J. Obesity*. v. 5, p. 593-596, 1981.
- FERRANNINI, E.; BJORNTORP, P.; DESLYPERE, J.P.; GUY-GRAND, B.; RAVUSSIN, E. et al.** Cardiovascular Disease. In: *Obesity*, by Colwood House Medical Publications (UK) Limited, the Mitfords, Basingstake Road, Thee Mile Cross, Reading, Berkshire, UK, 1996.
- FERREIRA, F.C.** Adaptações somáticas à programa de exercício moderado em natação, em ratos machos jovens alimentados com dieta hipercalórica. São Carlos, Monografia, 2002.

**FLATT, J. P.; TREMBLAY, A. Energy expenditure and substrate oxidation. In: BRAY, G. A.; BOUCHARD, C.; JAMES, W.P.T. Handbook of obesity. New York: Marcel Dekker , p. 513-537, 1998.**

**FORETZ, M.; PACOT, C.; DUGAIL, I.; LEMARCHAND, P.; GUICHARD, C.; LE LIEPVRE X. ADD1/SREBP-1c is required in the activation of hepatic lipogenic gene expression by glucose. Mol Cell Biol ; v.19, p. 3760-8, 1999.**

**FOSTER-SCHUBERT, KE.; MCTIERNAN, A.; FRAYO, R.S.; SCHWARTZ, R.S.; RAJAN K. et al. Human plasma ghrelin levels increase during a one-year exercise program. J. Clin. Endocrinol Metab., v .90, p. 820-825, 2005.**

**FRAYN, K.; SHADID, S.; HAMLANI, R.; HUMPHREYS, S.M.; CLARK, M.L. et al. Regulation of fatty acid movement in human adipose tissue in the postabsorptive-to-postprandial transition. Am. Journal Physiol. , v. 266, n° 29, p. 308-317, 1994.**

**FUNG, T. T.; RIMM, E. B.; SPIEGELMAN, D.; RIFAI, N.; TOFLER, G. H. et al. Association between dietary patterns and plasma biomarkers of obesity and cardiovascular disease risk. Am. J. Clin. Nutr. , v. 73, p. 61-67, 2001.**

**GAÍVA, M.H.G.; COUTO, R.C.; OYAMA, L.M. Polyunsaturated fatty acid-rich diets: effect on adipose tissue metabolism in rats. Br J Nutr. , v. 86, p. 371-383, 2001.**

**GRANDJEAN, P.W.; CROUSE, S.F.; ROHACK, J.J. Influence of cholesterol status on blood lipid and lipoprotein enzyme responses to aerobic exercise. J Appl Physiol . v.89, p. 472-480, 2000.**

**GELOÉN, A.; COLET, A.J.; GUAY, G.; BUKOWIECK, L.J. Insulin stimulates in vivo cell proliferation in white adipose tissue. Am. J. Physiol. v. 256, n° 25, p. 190-196, 1989.**

**GIANOTTI, M.; ROCA, P.; PALOU, A.; Body weight and tissue composition in rats made obese by a cafeteria diet: effect of 24 hours starvation. Horm. Metab. Res., v. 20, n° 4, p. 208-212, 1988.**

**GIRARD, J. Fat acids and beta cells. Diabetes Metab. , v. 26, p. 6-9, 2000.**

**GLISEZINSKI, I.D.; CRAMPES, F.; HARANT, I.; BERLAN, M.; HEJNOVA, J.; LANGIN, D.; RIVIÉRE, D.; STICH, V. Endurance training changes**

- in lipolytic responsiveness of obese adipose tissue. *Am. J. Physiol.* , v. 275, nº 38 , p. 951-956, 1998.
- GLISEZINSKI, I.D.; HARANT, I.; CRAMPES, F.; TRUDEAU, F.; FELEZ, A.; COTTET-ÉMARD, J.M.; GARRIGUES, M.; RIVIÉRE, D. Effect of carbohydrate ingestion on adipose tissue lipolysis during long-lasting exercise in trained men. *J. Appl. Physiol.* v.84, nº 5, p.1627-1632, 1998.
- GOODPASTER, B.H.; THAETE, F.L.; SIMONEAU, J.A.; KELLEY, D.E.; Subcutaneous abdominal fat and thigh muscle composition predict insulin sensitivity independent of visceral fat. *Diabetes*, v.46, p.1579-1585, 1997.
- GRILLO, C. M. Physical Activity and Obesity. *Biomed & Pharmacother*, v. 56, p.127-36, 1994.
- GRUNDY, S.M. Multifactorial causation of obesity: implications for prevention. *Am. J. Clin. Nutr.* v.67, p.563-572, 1998.
- GRUNDY, S.M.; BLACKBURN, G.; HIGGINS, M.; LAUER, R.; PERRI, M.G. et al. Roundtable consensus statement: physical activity in the prevention and treatment of obesity and its comorbidities. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, v. 31, p. 502-508, 1999.
- GUPTA, A.K.; ROSS, E.A.; MYERS, J.N.; KASHYAP, M.L. Increased Reverse Cholesterol Transport in Athletes. *Metabolism* , v. 42, nº 6, p. 684-690, 1993.
- GUS, M.; MOREIRA, L.B.; PIMENTEL, M. Associação entre diferentes indicadores de obesidade e prevalência de hipertensão arterial. *Arq Bras Cardiol.* , v.70, 1998.
- GUTIN, B; BARBEAU, T.; OWENS, S.; LEMMON, CR.; BAUMAN, M. et al Effects of exercise intensity on cardiovascular fitness, total body composition, and visceral adiposity of obese adolescents. *American Journal of Clinical Nutrition*, v.75, p.818-826, 2002
- HALAAS, J.L.; GAJIWALA, K.S.; MAFFEI, M.; COHEN, S.L.; CHAIT, B.T.; et al. Weight reducing effects of plasma protein encoded by the obese gene. *Science*, v.269, p. 543-546, 1995.
- HANSEN, T.K.; DALL, R.; HOSODA, H.; KOJIMA, M.; KANGAWA, K.; CHRISTIANSEN, J.S. & JORGENSEN, J.O. Weight loss increases



circulating levels of ghrelin in human obesity. *Clin. Endocrinol.* , v.56, p.203–206, 2002.

HAQQ, A.M.; FAROOQI, I.S.; O'RAHILLY, S.; STADLER, D.D.; ROSENFELD, R.G.; PRATT, K.L. et al. Serum ghrelin levels are inversely correlated with body mass index, age, and insulin concentrations in normal children and are markedly increased in Prader-Willi syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, v. 88, p.174-178, 2003.

HARDMAN, A.E. Physical activity, obesity and blood lipids. *International Journal of Obesity*. v23 (Suppl. 3), p.64-71, 1999.

HAUNER, H. Human adipocytes – State of the Art. In: *Progress in Obesity Research*, John Libbey & Company. 8th International congress on Obesity, p.47-53, 1999.

HICKEY, M.S.; CONSIDINE, R.V.; ISRAEL, R.G.; MAHAR, T.L.; MCCAMMON, M.R.; TYNDALL, G.L.; HOUMARD, J.A. AND CARO, J.F. Leptin is related to body fat content in male distance runners. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* , v. 271, p. 938–940, 1996.

HINNEY, A.; HOCH, A.; GELLER, F.; SCHFER, H.; SIEGFRIED, W. et al. Ghrelin gene: identification of missense variants and a frameshift mutation in extremely obese children and adolescents and healthy normal weight students. *Journal Clinical Endocrinology and Metabolism*, v.87, n° 6, p. 2716, 2002.

HIRSCH, J.; GALLIAN, E. Methods for determination of adipose cell size in man and animals. *J. Lipid. Res.* , v. 9, p.110-19, 1968.

HOFFMAN, L.R. Data on file. *Obesity: A decision base additional indication*, 1995.

HOFFMAN, L.R. *Obesity and dietary fat*. In: F-Hoffmann-La Roche Ltd by synergy medical education 31 the gree, richmond, surrey, TW 9 ILX, 1998.

HORBER, F.F.; KOHLER, S.A.; LIPPUNER, K.; JAEGER, P. Effect of regular physical training on age-associated alteration of body composition in men. *European Journal of Clinical Investigation*, v. 26, p. 279-285, 1996.

**HOROWITZ, J.F.; KLEIN, S. Role body and abdominal lipolitic sensitivity to ephinefrine is suppressed in upper body obese women. American Journal of Physiology, v. 278, p. 1144-1152, 2000.**

**HOROWITZ, J.F. Regulation of lipid mobilization and oxidation during exercise in obesity. Exercise and sports science review, v. 29, nº 1, p.42-46, 2001.**

**HORVATH, T.L.; DIANO, S.; SOTONYI, P.; HEIMAN, M. & TSCHOP, M. Minireview: ghrelin and the regulation of energy balance-a hypothalamic perspective. Endocrinology v.142, p.4163-4169, 2001.**

**HOTAMISLIGIL, G.S.; ARNER, P.; CARO, J.F.; ATKINSON, R.L.; SPIEGELMAN, B.M. Increase adipose tissue expression of TNF in human obesity and insulin resistance. J. Clin. Invest , v. 95, p. 409-415, 1995.**

**Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF), 2003.**

**ISHII, T. La Actividad física y los niveles de leptina. Metabolism, v. 50, nº 10, p.1136-1140, 2001.**

**JOHNSON, J. A.; FRIED, S.K.; PI-SUNYER, F..X.; ALBU, J.B. Impaired insulin action in subcutaneous adipocytes from woen with visceral obesity. Am Journal of Physiol., v. 280, p. 40-9, 2001.**

**JUHAN-VAGUE, I.; ALESSI, M.C. PAI-1, obesity, insulin resistance and risk of cardiovascular events. Thrombosis and Haemostasis, v. 78, p. 656-660, 1997.**

**KAMEGAI, J.; HIDEKI, T.; TAKAKO, S.; SHINYA, I.; HITOSHI, S. et al. Central effect of ghrelin, an endogenous growth hormone secretagogue, on hypothalamic peptide gene expression. Endocrinology , v. 141, 4797-1481, 2000.**

**KAMEGAI, J.; TAMURA, H.; SHIMIZU, T.; ISHII, S.; SUGIHARA, H.; WAKABAYASHI, I. Chronic central infusion of ghrelin increases hypothalamic neuropeptide Y and Agouti-related protein mRNA levels and body weight in rats. Diabetes, v. 50, p. 2438-43, 2001.**

**KANAI, H.; TOKUNAGA, K.; FUJIOKA, S.; YAMASHITA, S.; KAMEDA-TAKEMURA, K.; MATSUZAWA, Y. Decrease in intraabdominal visceral fat may reduce blood pressure in obese women. Hypertension, p.16.484-490, 1996.**

**KANALEY, J.A.; CRYER, P.E.; JENSEN, M.D. Fatty acid kinetic responses to exercise: effects of obesity, body fat distribution and energy-restricted diet. Journal of Clinical Investigation, v. 92, p. 2 55-61, 1993.**

**KAPPES, A.; LOFFLER, G. Influences of iono-mycin, dibutyryl-cyclo AMP and tumor necrosis factor alpha on intracellular amount and secretion of apM1 in differentiating primary human preadipocytes. Hormone Metab Res , v. 32, p. 548 –554, 2000.**

**KATAN, M.B. Effect of low-fat diets on plasma high-density lipoprotein concentrations. Am. J. Clin. Nutr. v.68, p. 573-576, 1998.**

**KIM, Y.; TAMURA, T.; IWASHITA, S.; TOKUYAMA, K.; SUZUKI, M. Effect of high-fat diet on gene expression of Glut4 and insulin receptor in soleus muscle. Biochemical and Biophysical Research Communications, v. 202, p. 519-526, 1994.**

**KIM, C. H.; YOUN, J. H.; PARK, J. Y.; HONG, S. K.; PARK, K. S. et al. Effects of high-fat diet and exercise training on intracellular glucose metabolism in rats. Am. J. Physiol., v. 278, p. 977-984, 2000.**

**KOBATAKE, T.; MATSUZAKA, Y.; TOKUNAGA, K.; FUJIOKA, S.; KAWAMOTO, T.; et al. Metabolic Improvements associated with a reduction of abdominal visceral fat caused by a new a glucosidase inhibitor in Zucker fatty rats. Int. J. Obes., v.13, p.147-154, 1989.**

**KOJIMA, H.; HOSODA, H.; MATSUO, K.; KANGAWA, K. Ghrelin: discovery of the natural endogenous ligand for the growth hormone secretagogue receptor. Trends Endocrinol Metab, v.12, p.118-122, 2001.**

**KRAEMER, R.R.; ABOUDEHEN, S.A.; CARRUTH, A.K.; DURAND, R.J.; ACEVEDO, E.O. Adiponectin responses to continuous and progressively intense intermittent exercise. Medicine & Science in Sports & Exercise , v. 35, n° 8, p.1320-1325, 2003.**

**KRAEMER, R.R.; DURAND, R.J.; ACEVEDO, E.O.; JOHNSON, L.G.; KRAEMER, G.R. et al. Rigorous running increases growth hormone and insulin-like growth factor-I without altering ghrelin. Exp Biol Med, v.229. n°3, p.240-246, 2004**

**KUSUNOKI, M.; STORLIEN, L.H.; MacDESSI, J.; OAKES, N.D.; KENNEDY, C.; CRISHOLM et al .Muscle glucose uptake during and after**

- exercise is normal in insulin-resistant rats. *Am. J. Physiol.*, v. 264, nº 27, p.167- 172, 1993.
- LADU, M. J.; KAPSAS, H.; PALMER, W. Regulation of lipoprotein lipase in muscle and adipose tissues during exercise. *J. Appl. Physiol.* , v.71, nº 2, p. 404 - 409, 1991.
- LANDT, M.; LAWSON, G.M.; HELGESON, J.M.; DAVILA-ROMAN, V.G.; LADENSON, J.H.; JAFFE, A.; HICKNER, R.C. Prolonged exercise decreases serum leptin concentrations. *Metabolism* , v. 46, p. 1109–1112, 1997.
- LARSON, D.E.; TATARANNI, P.A.; FERRARO, R.T.; RAVUSSIN, E. Ad libitum food intake on a “cafeteria diet” in Native American women: relations with body composition and 24-h energy expenditure. *American Journal of Clinical Nutrition*, Bethesda, v. 62, nº 5, p. 911-917, 1995.
- LEAN, M. *Clinical Handbook of Weight Management*. London: Martin Dunitz, 1998.
- LEE, H.M.; WANG, G.; ENGLANDER, E.W.; KOJIMA, M; GREELEY, G.H. Ghrelin: a new gastrointestinal endocrine peptide that stimulates insulin secretion enteric distribution, ontogeny, influence of endocrine and dietary manipulations. *Endocrinology*, v.143, p. 185-190, 2002.
- LEIDY, H. J.; GARDNER, J. K.; FRYE, B. R.; SNOOK, M. L.; SCHUCHERT, M.K. et al., *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, v. 89, nº6 p. 26-59, 2004.
- LEVINE, N.; NELSON, C.; GURNEY, A.; VANDELEN, R.; D SALVAGE, F. Decreased food intake does not completely account for adiposity reduction after ob protein infusion. *Procedy Natlional Acad. Science*, v. 93, p. 1726-1730, 1996.
- LIN, S.; THOMAS, T.C.; STORLIEN, L.H. & HUANG, X.F. Development of high fat diet induced obesity and leptin resistance in C57BI/6J mice. *Int J Obes Relat Metab Disord*, v. 24, p.639-659, 2000.
- LOPES, K.M.D. Os efeitos crônicos do exercício físico aeróbio nos níveis de serotonina e depressão em mulheres com idade entre 50 a 72 anos. Tese de mestrado apresentada a Universidade Católica de Brasília, p.104, 2001.

- LOTUFO, P.A.** Increasing obesity in Brazil: predicting a new peak of cardiovascular mortality. *Rev Paul Med*, v.118, nº 6, p. 161-162, 2000.
- LU, D.; WILLARD, D.; PATEL, I.R.** Agouti protein is an antagonist of the melanocyte-stimulating hormone receptor. *Nature*, v. 371, p. 799-802, 1994.
- MAFFEI, M.; HALAAS, J.; RAVUSSIN, E. et al..** Leptin levels in human and rodent: measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight-reduced subjects. *Nat Med* , v. 1, p. 1155-1161, 1995.
- MAHONEY, L.T.; BURNS, T.L.; STANFORD, W.** Coronary risk factors measured in childhood and young adult life are associated with coronary artery calcification in young adults: the Muscatine study. *J Am Coll Cardiol.*, v. 27, p. 277-284,1996.
- MANDENOFF, A.; LENOIR, T.; APFELBAUM, M.** Tardy occurrence of adipocyte hyperplasia in cafeteria-fed rat. *Am. J. Physiol.* v.242, nº11, p. 349-351, 1982.
- MARGARETO, J.; GOMEZ-AMBROSI, J.; MARTI, A. & MARTÍNEZ, J.A.** Time-dependent effects of a high-energy-yielding diet on the regulation of specific white adipose tissue genes. *Biochem Biophys Res Commun* , v. 58, p. 283-286, 2001.
- MARGARETO, J.; MARTI, A.; MARTÍNEZ, J. A.** Changes in UCP mRNA expression levels in brown adipose tissue and skeletal muscle after feeding a high-energy diet and relationships with leptin, glucose and PPAR $\gamma$ . *The Journal of Nutritional Biochemistry*, v. 12, p. 130-137, 2001.
- MARTIN, M.L.; JENSEN, M.D.;** Effect of body fat distribution on regional lipolysis in obesity. *Journal of Clinical Investigation*, v.88, p. 609-613, 1991.
- MATSUZAWA, Y.** Insulin resistance and atherosclerosis. In *Diabetes Mellitus, Obesity and Hyperlipidemia. (Proceedings of Satellite Symposium to 15th International Diabetes Federation Congress)* eds. MATSUZAKA, Y.; AKANUMA, Y. Axel Springer, Japan Tokyo, p.1-6, 1995.
- MATSUZAWA, Y.; FUNAHASHIM, T.; NAKAMURA, T.; SHIMOMURA, I.; ARITA, Y.** Visceral obesity: From genes to diseases. In: *Progress in Obesity*, ed. John Libbey & Company Ltd., p.547-554, 1999.

- MERCER, J.G.; HOGGARD, N.; WILLIAMS, L.M.; LAWRENCE, C.B.; HANNAH, L.T., et al. Coexpression of leptin receptor and preproneuropeptide y in arcuate nucleus of mouse hypothalamus. Journal Neuroendocrinology, v.8, p.733-735, 1996.**
- MOHAMED-ALI, V.; PINKNEY, J.H. & COPPACK, S.W. Adipose tissue as an endocrine and paracrine organ. Int J Obes , v. 22, p.1145-1158, 1998.**
- MOHAMED-ALI, V.; GOODRICK, S.; RAWESH, A.; KATZ, D.R.; MILES, J.M. et al. Subcutaneous adipose tissue releases Interleucina-6 but not TNF in vivo. J. Clin. Endocrinol. Metab., v. 82, p. 4196-4200, 1997.**
- MONTEIRO, C.A.; MONDINI, L.C. Mudanças na composição e adequação nutricional da dieta familiar nas áreas metropolitanas do Brasil (1988-1996). Rev. Saúde Pública, v.34, p. 251-258, 2000.**
- MOORE, B. The Cafeteria Diet:An Inappropriate Tool for Studies of Thermogenesis. Journal Nutr. , v. 117, p. 227-231, 1987.**
- MORPURGO, P.S.; RESNIK, M.; AGOSTI, F.; CAPPIELLO, V.; SARTORIO, A. et al., Ghrelin secretion in severely obese subjects before and after a 3-week integrated body mass reduction program. J Endocrinol Invest. v.26, nº8, p. 723-727, 2003.**
- MURASE, T.; NAGASAWA, A.; SUZUKI, J.; HASE, T. & TOKIMITSU, I. Beneficial effects of tea catechins on diet-induced obesity: stimulation of lipid catabolism in the liver. Int J Obes Relat Metab Disord , v. 26, p.1459-1465, 2002.**
- MURPHY, K.G. & BLOOM, SR. Gut hormones in the control of appetite. Experimental Physiology , v. 89, p. 507-516, 2004.**
- NAKAZATO, M.; MURAKAMI, N.; DATE, Y. et al., A role for ghrelin in the central regulation of feeding. Nature, v. 409, p.194-198, 2001.**
- NATIONAL INSTITUTE OF HEALTH, NATIONAL HEART, LUNG, AND BLOOD INSTITUTE. Clinical Guidelines on identification, evaluation, and treatment of overweight and obesity in adults: The evidence report. Obesity Research, v. 6, p.2, 1998.**
- NOAKES, M.; CLIFTON, P. M. Weight loss and plasma. Health Science and Nutrition. ,v.11, nº1, p. 65-70, 2000.**

- OBICI, S.; FENG, Z.; KARKANIAS, G.; BASKIN, D.G. & ROSSETTI, L.** Decreasing hypothalamic insulin receptors causes hyperphagia and insulin resistance in rats. *Nat Neurosci* , v. 5, p. 566-572, 2002.
- O'RAHILLY, S.** Insights into obesity and insulin resistance from the study of extreme human phenotypes. *Eur J Endocrinol*, v.147, p. 435-441, 2002.
- OSCAI, L.B.; MILLER, W.C. & ARNALL, D.A.** Effects of dietary sugar and of dietary fat on food intake and body fat content in rats. *Growth* , v. 51, p. 64-73, 1987.
- OTTO, B.; CUNTZ, U.; FRUCHAUF, E.; WAWARTA, R.; FOLWACZNY, C. et al.** Weight gain decreases elevated plasma ghrelin concentrations of patients with anorexia nervosa. *European journal of Endocrinology*, v.145, p. 5-9, 2001.
- OUCHI, N.; KIHARA, S.; ARITA, Y.; MAEDA, K.; KURIYAMA, H. et al.** Novel modulator for endothelial adhesion molecules: adipocyte-derived plasma protein adiponectin. *Circulation*, v.100, nº 25, p. 2473-2476, 1999.
- OUCHI, N.; KIHARA, S.; ARITA, Y.; NISHIDA, M.; MATSUYAMA, A. et al..** Adipocyte-derived plasma protein, adiponectin, suppresses lipid accumulation and class A scavenger receptor expression in human monocyte-derived macrophages. *Circulation* , v.103, nº 8, p. 1057-1063, 2001.
- PAVAN, F.** Efeitos do treinamento moderado (esteira e natação) sobre a síntese lipídica e outros parâmetros nutricionais de ratas durante o ciclo reprodutivo em duas gerações. São Carlos, Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas), UFSCar, 2000.
- PÉRUSSE, L.; COLLIER, G.; GAGNON, J.; LEON, A.S.; RAO, D.C. et al.** Acute and chronic effects of exercise on leptin levels in humans. *J Appl Physiol* , v. 83, p. 5 - 10, 1997.
- PINKEY, P.; WILLIAMS, G.** Ghrelin gets hungry. *The Lancet*, v. 359, nº 20, p.1360 - 1371, 2002.
- PODOLIN, D.A.; WEY, Y.; PAGLIASSOTTI, M.J..** Effects of a high-fat diet and voluntary wheel running on gluconeogenesis and lipolysis in rats. *J. Appl. Physiol.* , v. 86, nº 4, p. 1374 –1380, 1999.

- POND, C.M. Physiological specialization of adipose tissue. *Prog Lipid Res* , v. 38, p. 225-234, 1999.
- RABELO, R. Controle do Gasto Calórico. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia*. v. 45, p. 273, 2001.
- RABEN, A.; CHRISTENSEN, J.; ASTRUP, A. Postprandial responses in substrate oxidation and appetite in post-obese subjects. *International Journal of Obesity*, v.17, nº 3, p.40-43, 1993.
- RAVUSSIN, E.; TSCHOP, M.; MORALES, S.; BOUCHARD, C.; HEIMAN, M.L. Plasma ghrelin concentration and energy balance: overfeeding and negative energy balance studies in twins. *Journal Endocrinology and Metabolism*, v.86, nº 12, p. 5972-5979, 2001.
- REYBROUCK, et al. Cardiorespiratory function during exercise in obese children. *Acta Paediatrica Scandinavica*, v.76, p. 342-48, 1987.
- REYNISDOTTIR, S.; WAHRENBERG, H.; CALSTROM, K.; ROSSNER, S.; ARNER, P. Catecholamine resistance in fat cells of women with upper-body obesity due to decreased expression of beta 2-adrenoceptors. *Diabetologia*, v.37, p.428-435,1994.
- RICE, B. Effects of aerobic or resistance exercise and or diet on glucose tolerance and plasma insulin levels in obese men. *Am. Diab. Assoc*, v. 22, nº 5, p. 684-691, 1999.
- ROBERTS, C.K; BARNARD, R.J.; LIANG, K.H. & VAZIRI, N.D. Effect of diet on adipose tissue and skeletal muscle VLDL receptor and LPL: implications for obesity and hyperlipidemia. *Atherosclerosis* , v. 161, p.133-139, 2002.
- ROBINSON, A.M.; WILLIAMSON, D.H. Control of glucose metabolism in isolated acini of the lactating mammary gland of rat: effects of oleate on glucose utilization and lipogenesis. *Biochem J.*, v. 170, p. 609-621, 1978.
- ROMIJN, J.A.; COYLE, E.F.; SIDOSSIS, L.; GASTALDELLI, A.; HOROWITZ, J.F. et al. Regulation of endogenous fat and carbohydrate metabolism in relation to exercise intensity and duration. *Am. J. Physiol.*, v. 265 (Endocrinol. Metab. 28), p. 380-391, 1993.



**ROSS, R; FREEMAN, J.A.; JANSSEN, I.. Exercise alone is an effective strategy for reducing obesity and related comorbidities. Exercise and sports science review, v. 28, n° 4, p.165-170, 2000.**

**ROTHWELL, N.J.; STOCK, M.J.; TRAYHURN, P. Reduced lipogenesis in cafeteria-fed rats exhibiting diet-induced thermogenesis. Biosci Rep , v. 3, p. 217-227, 1983.**

**ROZEN, R.; BRIGANT, L. & APFELBAUM, M. Effects of cycles of food restriction followed by ad libitum refeeding on body composition and energy expenditure in obese rats. Am J Clin Nutr , v. 59, p. 560-578, 1994.**

**RUBY, B.C.; ROBERGS, R.A. Gender differences in substrate utilisation during exercise. Sports-Med., v.17, n° 6, p. 393-410, 1994.**

**SAFONOVA, I.; AUBERT, J.; NÉGREL, R.; AILHAUD, G.. Regulation by fatty acids of angiotensinogen gene expression in preadipose cells. Biochem. J., v. 322, p. 235-239, 1997.**

**SAKAKURA, Y.; SHIMANO, H.; SONE, H.; TAKAHASHI, A.; INOUE, N., et al. Sterol regulatory element-binding proteins induce an entire pathway of cholesterol synthesis. Biochem Biophys Res Commun; v. 286, p. 176-183, 2001.**

**SAKAMOTO, T.; WOODCOCK-MITCHELL, J.; MARUTSUKA, K.; MITCHELL, J.J.; SOBEL, B.E. et al. TNF-alpha and insulin, alone and synergistically, induce plasminogen activator inhibitor-1 expression in adipocytes. Am. J. Physiol., v.276, p.1391-1397, 1999.**

**SALADIN, R.; DE VOS, P.; GUERRE-MILLO, M.; LETURQUE, A.; GIRARD, J. et al.. Transient increase in obese gene expression after food intake or insulin administration. Nature , v. 377, p. 227-259, 1995.**

**SCARPACE, P.J.; MATHENY, M. Leptin induction of UCP1 gene expression is dependent on sympathetic innervation. Am. J. Physiol. , v. 275 , n° 38, p. 259-264, 1998.**

**SCHMIDT, A.; MAIER, C.; SCHALLER, G.; NOWOTNY, P.; BAYERLE-EDER, M, et al. Acute exercise has no effect on ghrelin plasma concentrations. Horm Metab Res., v.36, n° 3, p.174-177, 2004.**

**SCHOELLER, D.A. The importance of clinical research: the role of**

- termogenesis in human obesity. *Am. Journal Clin. Nutr.* , v. 73, p. 511-516, 2001.
- SCHRAUWEN, P. & WESTERTERP, K.R. The role of high-fat diets and physical activity in the regulation of body weight. *Br J Nutr* , v. 84, p. 417-518, 2000.
- SCHWARTZ, M.W.; WOODS, SC.; SEELEY, R.J.; BARSH, G.S. & BASKIN, D.G. Is the energy homeostasis system inherently biased toward weight gain? *Diabetes*, v.52, p. 232-238, 2003.
- SCHWARTZ, M.W.; WOODS, S.C.; PORTE, D; SEELEY, R.J.; BASKIN, D.G. Central nervous system control of food intake. *Nature*, v. 404, p. 661-671, 2000.
- SCLAFANI, A.; SPRINGER, D. Dietary obesity in adult rats: similarities to hypothalamic and human obesity syndrome. *Physiol. Behav.*, v.17, p. 461-471, 1976.
- SEGAL, K.R.; LANDT, M. & KLEIN, S. Relationship between insulin sensitivity and plasma leptin concentration in lean and obese men. *Diabetes* , v. 45, p. 988-991, 1996.
- SEGAL, K.R.; Pi-SUNYER, X.F. Exercise and obesity. *Med. Clin. N. Amer.*, v.73, n° 1, p. 17-36, 1989.
- SHEEHGAN, M.T.; JENSEN, M.D. Metabolic Complications of Obesity. Pathophysiologic considerations. *M Clin N Am*, v. 84, p. 363-85, 2000.
- SHETTY, P.S. Physiological mechanisms in the adaptative response of metabolic rates to energy restriction. *Nutrition Research Reviews*, Cambridge, v. 3, p. 49-74, 1990.
- SHIMOMURA, I.; BASHMAKOV, Y.; IKEMOTO, S.; HORTON, J.D.; BROWN, M.S. et al. Insulin selectively increases SREBP-1c mRNA in the livers of rats with streptozotocin-induced diabetes. *Proc Natl Acad Sci.*, v.96, p.136-156, 1999a.
- SHIMOMURA, I.; HAMMER, R.E.; IKEMOTO, S.; BROWN, M.S.; GOLDSTEIN, J.L. Leptin reverses insulin resistance and diabetes mellitus in mice with congenital lipodystrophy. *Nature*, v. 401, p.73-76, 1999b.

**SHIMOMURA, I.; MATSUDA, M.; HAMMER, R.E.; BASHMAKOV, Y.; BROWN, M.S. et al. Decreased IRS-2 and increased SREBP-1c lead to mixed insulin resistance and sensitivity in livers of lipodystrophic and ob/ob mice. Mol Cell. , v.6, p.77-86, 2000.**

**SHIMOMURA, I.; FUNAHASHI, T.; TAKAHASHI, M.; MAEDA, K.; KOTANI, K. et al. Enhanced expression of PAI-1 in visceral fat: possible contributor to vascular disease in obesity. Nature Med., v.2, p.800-802, 1996.**

**SHINTANI, M.; OGAWA, Y.; EBIHARA, K. Ghrelin, an endogenous growth hormone secretagogue, is a novel orexigenic peptide that antagonizes leptin action through the activation of hypothalamic neuropeptide Y/Y1 receptor pathway. Diabetes, v. 50, p.227-232, 2001.**

**SIMONEAU, J.A.; VEERKAMP, J.H.; TURCOTTE, L.P.; KELLEY, D.E. Markers of capacity to utilize fatty acids in human skeletal muscle: relation to insulin resistance and obesity and effects of weight loss. FASEB Journal, v.13, p.2051-2060, 1999.**

**SIPOLS, A.J.; BASKIN, D.G.; SCHWARTZ, M.W. Effect of intracerebroventricular insulin infusion on diabetic hyperphagia and hypothalamic neuropeptide gene expression. Diabetes, v. 44, p. 147-151, 1995.**

**SMITH, U. Insulin resistance and signaling in human adipocytes-clinical and molecular aspects. In: Progress in Obesity, ed. John Libbey & Company Ltd., p. 485-488, 1999.**

**SMITH, S. R.; JONGE, L.; ZACHWIEJA, J. J.; ROY, H.; ROOD, J. C. et al. Fat and carbohydrate balances during adaptation to a high-fat diet. Am. J. Clin. Nutr. , v.71, p.450-457, 2000.**

**SPIEGELMAN, B.M.; FLIER, J.S. Obesity and the regulation of energy balance. Cell, v.104, p. 531-43, 2001.**

**STANBIE, D.; BROWSEY, R.W.; CRETZAZ, M.; DENTON, R.M. Acute effects in vivo of anti-insulin serum on rates of fatty acid synthesis and activities of acetylcoenzyme A carboxylase and pyruvate dehydrogenase in liver and epididymal adipose tissue of fed rats. Biochem. J. , v. 160, p. 413-426, 1976.**

- STEFAN, N.; VOZAROVA, B.; FUNAHASHI, T.; MATSUZAWA, Y.; WEYER, C. et al. Plasma adiponectin concentration is associated with skeletal muscle insulin receptor tyrosine phosphorylation and low plasma concentration precedes a decrease in whole-body insulin sensitivity in humans. *Diabetes*, v.51, p.1884–1888, 2002.**
- STEPHENS, T.W.; BASINSKI, M.; BRISTOW, P.K.; BUE-VALLESKEY, J.M.; BURGETT, S.G. et al. The role of neuropeptide y in the antiobesity action of obese gene product. *Nature*, v. 377, p.530-532, 1995.**
- STONE, N.J. Diet, lipids, and coronary heart disease. *Endocrinol. Metab. Clin. North. Am.* , v.19, n° 2, p. 321-344, 1990.**
- STORLIEN, L.H.; ELSE, P.L.; EDWELL, F.C.; THOMAS, T.C.; TAPSELL, et al. Dietary fats, obesity and insulin resistance. *Guy-Grand B & Ailhaud G. In: Progress in obesity research*, 8ed. John Libbey, Paris, 1999.**
- SUTHERLAND, C.; O'BRIEN, R.M.; GRANNER, D.K. New connections in the regulation of PEPCK gene expression by insulin. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* , v. 351, p.191-199, 1996.**
- TANAKA, M.; NARUO, T.; MURANAGA, T.; YASUHARA, D.; SHIYA, T. et al. Increased fasting plasma ghrelin levels in patients with bulimia nervosa. *European Journal Endocrinology*, v.146, n° 6, p.1-3, 2002.**
- TRAYHURN, P.; THOMAS, M.E.; DUNCAN, J..S.; RAYNER, D.V. Effects of fasting and refeeding on ob gene expression in white adipose tissue of lean na obese (ob/ob) mice. *FEBS Letters*, v. 368, p. 488-490, 1995.**
- TRAYHURN, P.; BEATTIE, J.H. Physiological role of adipose tissue: white adipose tissue as an endocrine and secretory organ. *Proc. Nutr. Soc.* , v. 60, p. 329-339, 2001.**
- TREMBLAY, A. Differences in fat balance underlying obesity. *Int. J. Obes.*; 19 (suppl 7), p.10-14, 1995.**
- TREMBLAY, A.; DESPRÉS, J.P.; MAHEUX, J.; POULIOT, M.C.; NADEAU, A. et al. Normalization of the metabolic profile in obese women by exercise and a low fa diet. *Med. Sci. Sports Exerc.*, v. 23, n° 12, p.1326-1331, 1991.**

- TRUSWELL, A. S. Dietary Fat – some aspects of nutrition and health and product development. Belgium: International Life Sciences Institute, 1995.**
- TSCHOP, M.; SMILEY, D.L. & HEIMAN, M.L. Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature* , v. 407, p. 908-913, 2000.**
- TSCHOP, M.; WAWARTA, R.; RIEPL, R.L.; FRIEDRICH, S.; BIDLINGMAIER, M. et al. Post-prandial decrease of circulating human ghrelin levels. *J. Endocrinol. Invest.*, v. 24, p.19–21, 2001a.**
- TSCHOP, M.; WEYER, C.; TATARANNI, P.A.; DEVANARAYAN, V.; RAVUSSIN, E. et al. Circulating ghrelin levels are decreased in human obesity. *Diabetes* , v. 50, p. 707–709, 2001b.**
- TSCHOP, M.; MORRISON, K.M. Weight loss at high altitude. *Adv. Exp. Med. Biol.*, v. 502, p. 237-47, 2001c.**
- TULP, O. L.; FRINK, R.; DANFORTH J.R. E. Effect of cafeteria feeding on brown and white adipose tissue cellularity, thermogenesis and body composition in rats. *Journal Nutr.* , v. 112, p. 2250-2260, 1982.**
- TUOMINEN, J. A. Serum leptin Concentration and fuel homeostasis in healthy man. *European Journal Clinical Investigation*, v. 27, p. 206-211, 1997.**
- UKKOLA, O.; RAVUSSIN, E.; JACOBSON, P.; PERUSSE, L.; RANKINEN, T. et al. Role of ghrelin polymorphisms in obesity based on three different studies. *Obes Res*, v.10, p. 782-791, 2002.**
- VAN DEN BREE, M.B.M.; EAVES, L.J.; DWYER, J.T. Genetic and environmental influences on eating patterns of twins aged  $\geq 50$ y. *Am J Clin Nutr*, v. 70, p. 456-465, 1999.**
- VAN DER LELY, A.J.; TSCHOP, M.; HEIMAN, M.L. & GHIGO, E. et al.. Biological, physiological, and pharmacological aspects of ghrelin. *Endocrine Rev.*, v. 25, n<sup>o</sup> 3, p. 426-457, 2004.**
- VAN DER VUSSE, G. J. & RENEMAN, R. S. Lipid metabolism in muscle. In: *Handbook of Physiology. Exercise: Regulation and Integration of Multiple Systems*. Bethesda. Am. Physiol. Soc., v.21, p. 952-994, 1996.**

- VASANKARI, T.J.; KUJALA, U.M.; VASANKARI, T.M.; AHOTUPA, M. Reduced oxidized LDL levels after a 10-month exercise program. *Med. Sci. Sports Exerc.*, v. 30, nº 10, p.1496-1501, 1998.
- VIUNISKI, N. Epidemiologia da obesidade e síndrome plurimetabólica na infância e adolescência. In: *Obesidade, MEDSI*, 2003.
- VOLK A, RENN W. & OVERKAMP D. Insulin action and secretion in healthy, glucose tolerant first degree relatives of patients with type 2 diabetes mellitus. Influence of body weight. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes* , v. 107, p. 140-147, 1999.
- WAJCHENBERG, B.L. Subcutaneous and Visceral Adipose Tissue: Their Relation to the Metabolic Syndrome. *Endocrine Reviews*, v. 21, nº 6, p. 697-738, 2000.
- WARDLE, J. Obesity and behaviour change: matching problems to practice. *International Journal of Obesity*, v.20, p.1-8, 1996.
- WARWICK, Z.; SCHIFFMAN, S. Role of dietary fat in calorie intake and weight gain. *Neurosci. Biohav. Rev.* v.16, p. 585 -96, 1992.
- WAY, J.M. Resistin an adipocytes secreted hormone potentially links obesity to diabetes. *J. Biol. Chem.* , v. 279, nº 28, p.651-653, 2001.
- WIDDOWSON, P.S.; UPTON, R.; BUCKINGHAM, R.; ARCH, J. & WILLIAMS, G. Inhibition of food response to intracerebroventricular injection of leptin is attenuated in rats with diet-induced obesity. *Diabetes* , v. 46, p.1782-1793, 1997.
- WILLIAMS, G.; BING, C.; CAI, X.C.; HARROLD, J.A.; KING, P.J. et al. The hypothalamus and the control of energy homeostasis: different circuits, different purposes. *Physiol Behav.*, v. 74, p. 683-701, 2001.
- WOLFE, R.R.; KLEIN, S.; CARRARO, F.; WEBER, J.M. Role of triglyceride-fatty acid cycle in controlling fat metabolism in humans during and after exercise. *Am. J. Physiol.*, v. 258, p.382-389, 1990.
- WOODS, S.C.; SEELEY, R.J.; RUSHING, P.A.; D'ALESSIO, D. & TSO, P. A. controlled high-fat diet induces an obese syndrome in rats. *J. Nutr.*, v.133, p. 1081-1087, 2003.
- WREN, A.; SMALL, C.J.; ABBOT, C.R. et al. Ghrelin causes hyperphagia and obesity in rats. *Diabetes*, v. 50, p. 540-547, 2001.

**WREN, A.M.; SEAL, L.J.; COHEN, M.A. et al., Ghrelin enhances appetite and increases food intake in humans. J. Clin. Endocrinol. Metab., v. 86, p. 992-997, 2002.**

**YAMAUCHI, T.; KAMON, J.; WAKI, H.; TERAUCHI, Y.; KUBOTA, N. et al. The fat derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipoatrophy and obesity. Nat. Med., v. 7, p. 941–946, 2001.**

**YOSHIHARA, F.; KOJIMA, M.; HOSODA, H.; NAZAKATO, M. & KANGAWA, K. Ghrelin: a novel peptide for growth hormone release and feeding regulation. Curr Opin Clin Nutr Metab Care , v. 5 , p. 391-395, 2002.**

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