

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Fisiológicas e da Saúde - CCBS
Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas – PPGCF
Laboratório de Nutrição e Metabolismo Aplicados ao Exercício - Departamento de
Educação Física e Motricidade Humana - DEFMH

**“EFEITOS DO EXERCÍCIO ACUMULADO SOBRE O CONTROLE DA
ADIPOSIDADE VISCERAL, LEPTINEMIA E GORDURA HEPÁTICA EM RATOS
ALIMENTADOS COM DIETA HIPERLIPÍDICA”.**

Marcela Sene Fiorese

São Carlos – SP

2008

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Fisiológicas e da Saúde - CCBS
Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas – PPGCF
Laboratório de Nutrição e Metabolismo Aplicados ao Exercício - Departamento de
Educação Física e Motricidade Humana - DEFMH

“EFEITOS DO EXERCÍCIO ACUMULADO SOBRE O CONTROLE DA ADIPOSIDADE VISCERAL, LEPTINEMIA E GORDURA HEPÁTICA EM RATOS ALIMENTADOS COM DIETA HIPERLIPÍDICA”.

Marcela Sene Fiorese

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Ana Dâmaso

Co-Orientadora: Prof^a. Dr^a. Ana Cláudia G.O. Duarte

Tese de Doutorado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Ciências Fisiológicas da
Universidade Federal de São Carlos
para obtenção do título de Doutora
em Ciências Fisiológicas.

São Carlos – SP

2008

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

S475ee

Sene-Fiorese, Marcela.

Efeitos do Exercício Acumulado sobre o controle da adiposidade visceral, leptinemia e gordura hepática em ratos alimentados com dieta hiperlipídica / Marcela Sene Fiorese.

-- São Carlos : UFSCar, 2008.

90 f.


Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2008.


1. Exercícios físicos. 2. Adiposidade. 3. Dieta hiperlipídica.
I. Título.

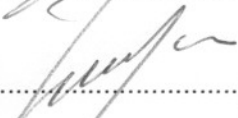
CDD: 619.93 (20^a)


Universidade Federal de São Carlos
Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas

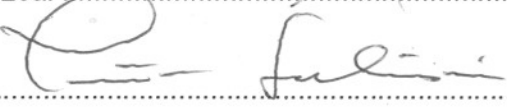
Defesa de Tese de Marcela Sene Fiorese

Profª. Drª. Ana Raimunda Dâmaso 

Prof. Dr. Ismael Forte Freitas Junior..... 

Prof. Dr. Luzimar Raimundo Teixeira..... 

Profª. Drª. Ângela Mérice de Oliveira Leal 

Profª. Drª. Tânia de Fátima Salvini..... 

DEDICATÓRIA

Dedicar essa Tese a uma só pessoa seria impossível e a muitas inviável. Desta forma dedico primeiramente aos meus pais acadêmicos: Ana Dâmaso e meu pai, que me inspiram a seguir essa carreira.

A minha mãe.. pela paciência.

Aos meus familiares e amigos pelo apoio, amor e carinho.

Ao meu marido, pelo seu apoio incondicional durante toda a minha formação acadêmica.

E especialmente ao meu filho Thiago, pelas horas de desconforto no meu ventre, ao qual foi submetido nessa etapa final.

AGRADECIMENTOS

Um agradecimento especial a Fernanda, não só pela ajuda no desenvolvimento do trabalho, mas principalmente pela amizade.

A todos os meus amigos do Laboratório de Nutrição e Metabolismo Aplicados ao Exercício: Marla, Nadia, Ricardo, José Alves, Flávia, Laura, Lucimara, Rafael (Pardal), Toninho, Grace, Danilo, Camila, Ana Cristina, Eduardo (Dú).

A Professora Ana Cláudia pela co-orientação e estímulo freqüente para continuar lutando.

Ao Prof. Damiano pelo apoio durante todo o meu doutorado.

A Ivete, do Laboratório de Análises Clínicas pelas dosagens do perfil lipídico, a Profa. Keico pela análise radioativa, ao Prof. Elizeu Rossi pelo suporte técnico.

A Capes.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas.

RESUMO

Este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos do exercício acumulado sobre o controle da adiposidade visceral, leptinemia e gordura hepática em ratos alimentados com dieta hiperlipídica. Para tal, ratos machos da linhagem Wistar foram divididos de acordo com a dieta – padrão (P) ou hiperlipídica (H) e com o tipo de exercício – sedentário (S); contínuo (EC) ou acumulado (EA). Os ratos submetidos ao exercício contínuo nadaram 90 minutos/dia e os submetidos ao exercício acumulado nadaram 3 sessões de 30 minutos por dia (com intervalo de 4 horas entre as sessões), cinco vezes por semana, ambos durante oito semanas. A massa corporal e a ingestão alimentar foram mensuradas diariamente. Ao término do período experimental todos os animais foram sacrificados por decapitação, o sangue coletado em tubos heparinizados. Além disso, foram removidos e imediatamente pesados o fígado (F), o trato gastrointestinal (TGI), os tecidos adiposos brancos epididimal (EPI), retroperitoneal (RET) e visceral (VIS); os tecido adiposo marrom (TAM) e o músculo gastrocnêmio (GAST). As análises bioquímicas realizadas foram a síntese lipídica, através da incorporação de água triciada, a captação de lipídios da dieta, através da quantidade de radioatividade de ^{14}C trioleína absorvida, ambos em todos os tecidos coletados. Além disso, foram mensuradas as concentrações de Leptina, Colesterol Total (COL), Triglicerídeos (TG) e HDL-col, todos através de Kits específicos. Os resultados estão expressos em média e erro padrão, sendo utilizados para a análise dos dados o programa InStat 3.0 (GraphPad, San Diego, CA, EUA, 1998). As comparações estatísticas foram feitas através de análise de variância, sendo considerado significativo $p < 0,05$. Os resultados significantes da análise de variância foram submetidos à análise *post hoc* Tukey-Kramer de comparação múltipla. Na vigência de dieta padrão os dois tipos de treinamento foram capazes de promover redução na adiposidade visceral e central e melhorar o perfil lipídico dos animais. Todavia, somente os animais submetidos ao exercício acumulado, apresentaram menor ganho de massa corporal e acúmulo de gordura nos tecidos adiposos brancos retroperitoneal e visceral. Em relação aos animais alimentados com a dieta hiperlipídica foi observado, independente do tipo de treinamento, a redução do acúmulo de gordura no fígado. Entretanto, quando submetidos ao exercício acumulado os animais apresentaram melhora no perfil lipídico e redução na leptinemia, no ganho de massa e na adiposidade central e visceral. O maior achado do presente estudo foi que o exercício acumulado foi mais efetivo que o contínuo em reduzir os efeitos adversos da dieta hiperlipídica e do sedentarismo.

Palavras Chaves: Exercício Acumulado, metabolismo, adiposidade visceral, esteatose hepática não alcoólica, dieta hiperlipídica.

ABSTRACT

This study aimed to examine the effects of accumulated exercises on visceral adiposity, circulating leptin and fatty liver in rats fed with high-fat diet. Wistar rats were divided according to diet composition—chow diet (C) or high-fat diet (H)—and kinds of exercise—sedentary (S), continuous (CE), or accumulated (AE) exercises. The CE group swam 90 min/d, and the AE group swam 3x30 min/d (at 4-h intervals between sessions); both groups exercised 5 d/wk both groups during 8 wk. Body weight and food intake were recorded daily. After the experimental period, all animals were killed in the fed state by decapitation. The whole blood was drawn into a heparinized tube. Liver (L); visceral retroperitoneal (RET), epididymal (EPI) and visceral (VIS) white adipose tissue; brown adipose tissue (BAT), the gastrocnemius muscle (GAST) and intestine were immediately removed and weighed. Lipogenesis rate *in vivo* was determined by the incorporation of $^3\text{H}_2\text{O}$ into saponified lipids in the collected tissues using the gravimetric method. Intestinal ^{14}C -labeled lipid absorption and accumulation in the collected tissues was determined by the total amount of radioactivity absorbed. Leptin, Total cholesterol, high-density lipoprotein (HDL)-cholesterol, and triacylglycerol (TG) in the plasma concentrations was measured. Results are expressed as mean \pm standard error. Data analysis was done using Instat 3.0 for Windows 95 (Graph Pad, San Diego, CA, USA, 1998). Statistical comparisons were carried out by one-way analysis of variance. Statistical significance was set at $p < 0.01$. Significant results of analysis of variance were subjected to post hoc analysis (Tukey-Kramer multiple comparisons). In the animals fed with chow diet, the both kind of exercise promoted reduction in central and visceral adiposity and improvement in lipid profile. However, only the accumulated exercise promoted minor body mass gain and visceral and central adiposity. On the other hand, in rats fed with high-fat diet, the accumulated exercise promoted improvement in lipid profile and reduction in circulating leptin, body weight gain, visceral and central adiposity and fatty liver. The continuous exercise only promoted reduction in the fatty liver. The major finding of the present study is that accumulated was more efficient than continuous exercise in reducing the adverse effects of high-fat diet and sedentarism. There was an improvement in the lipid profile and a reduction in food intake, body weight gain, visceral and central adiposity, circulating leptin and fatty liver, contributing to the control of obesity and other co-morbidities, including non-alcoholic fat liver diseases.

Keywords: Accumulated exercise, metabolism, visceral adiposity, fatty liver and high-fat diet

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Efeito dos Exercícios Contínuo e Acumulado e da Dieta Hiperlipídica sobre o Consumo Alimentar, Ingestão Calórica e Eficiência Alimentar dos animais. **45**
- Tabela 2.** Efeito dos Exercícios Contínuo e Acumulado e da Dieta Hiperlipídica sobre o peso relativo dos tecidos. **48**
- Tabela 3.** Efeito dos Exercícios Contínuo e Acumulado e da Dieta Hiperlipídica sobre o percentual de gordura dos tecidos. **49**
- Tabela 4.** Efeito dos Exercícios Contínuo e Acumulado e da Dieta Hiperlipídica sobre a síntese lipídica dos tecidos. **51**
- Tabela 5.** Efeito dos Exercícios Contínuo e Acumulado e da Dieta Hiperlipídica sobre a captação de lipídeos da Dieta. **53**
- Tabela 6:** Efeito dos Exercícios Contínuo e Acumulado e da Dieta Hiperlipídica sobre o perfil lipídico. **54**

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Efeito dos Exercícios Contínuo e Acumulado e da Dieta Hiperlipídica sobre o Ganho de Massa Corporal dos animais. **44**
- Figura 2.** Efeito dos Exercícios Contínuo e Acumulado e da Dieta Hiperlipídica sobre o peso relativo dos tecidos adiposos brancos. **47**
- Figura 3.** Efeito dos Exercícios Contínuo e Acumulado e Dieta Hiperlipídica sobre o percentual de Gordura no Fígado. **50**
- Figura 4.** Efeito dos Exercícios Contínuo e Acumulado e da Dieta Hiperlipídica sobre a concentração plasmática de Leptina. **55**

LISTA DE ABREVIATURAS

ACSM	American College of Sports Medicine
AGL	Ácidos graxos livres
AGRP	Agouti e proteínas relacionadas
cm	Centímetro
CDC	Center of Disease Control
CRH	Hormônio liberador de corticotropina
COL	Colesterol
ECP	Exercitado Contínuo – Dieta Padrão
ECH	Exercitado Contínuo – Dieta Hiperlipídica
EPI	Tecido adiposo branco visceral epididimal
FIG	Fígado
g	Gramma
GAST	Gastrocnêmio
HDL-c	Lipoproteína de alta intensidade
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IGF	Insulina como fator de crescimento
IOM	Institute of Medicine (USA)
IRS2	proteínas da família dos substratos do receptor de insulina
JAK	Janus Kinase
Kcal	kilocalorias
KJ	kilojoule
KOH	Hidróxido de Potássio
LDL-c	Lipoproteína de baixa densidade
mg/dl	Miligrama por decilitro
ml	mililitro
mRNA	Ácido ribonucléico Mensageiro
N	Normal
nm	nanômetro
ng/ml	Nanograma por mililitro
NAFLD	esteatose hepática não-alcoólica
NPY	Neuropeptídeo Y
OMS	Organização Mundial de saúde
PPO	2,2 p-fenilenbir(5-feniloxazol)
POPOP	2,5 Difeniloxazol (C ₁₅ H ₁₁ NO)
PI3K	Enzima fosfatidilinositol 3-quinase
RET	Tecido adiposo branco visceral retroperitoneal
SH	Sedentário dieta hiperlipídica
SOCS-3	Sinal da supressão da citocina
SP	Sedentário padrão
STAT-3	Sinal de transdução e ativação de transcrição 3
TAM	Tecido adiposo marrom
TG	Triglicerídeos
TMB	Taxa Metabólica Basal
TNF- α	Fator de necrose tumoral-alfa
UCP	Proteína desacopladora mitocondrial
ul	Microlitro
v	volume
VIS	Tecido adiposo branco visceral omental
VLDL-c	Lipoproteína de muito baixa densidade
μ m	Micrômetro
μ Ci	Mili Currie
$^{\circ}$ C	Graus celsius
α MSH	hormônio estimulante de melanócito

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. REVISÃO DA LITERATURA	18
3. OBJETIVO	31
3.1 Geral	31
3.2 Específicos	31
4. MATERIAL E MÉTODOS	32
4.1 Animais e Condições Experimentais	32
4.2. Desenho Experimental	32
4.3. Composição da Dieta Padrão	33
4.4. Composição da Dieta Hiperlipídica	33
4.5 Protocolo do Exercício Físico	34
4.6. Controle da Massa Corporal e Consumo Alimentar	35
4.7. Experimentos e Coleta de Amostras	35
4.8. Análises Bioquímicas	36
4.8.1. Determinação da Taxa de Lipogênese	36
4.8.2. Determinação da Captação de Lipídios da Dieta	37
4.8.3. Determinação do Percentual de Gordura dos Tecidos	39
4.9. Análises Bioquímicas do Soro	39
4.9.1 Triglicérides (GPO-POD)	39
4.9.2 Colesterol Total (COE/COD/POD)	40
4.9.3. HDL (HDL-Colesterol)	41
4.9.4 Leptina	41
4.10. Tratamento Estatístico dos Dados	42
5. RESULTADOS	43
5.1 Ganho de Massa Corporal	43
5.2 Consumo Alimentar	43
5.3 Eficiência Alimentar	44
5.4 Peso Relativo dos Tecidos	46
5. 5 Conteúdo de Lipídios nos Tecidos (%)	48
5. 6 Lipogênese	50
5. 7. ¹⁴ C-lipídios Absorvidos e Acumulados nos Tecidos	52
5. 8. Perfil Lipídico e Concentração Plasmática de Leptina	53
6. DISCUSSÃO	56
7. CONCLUSÕES	75
8. REFERÊNCIAS	76

1. INTRODUÇÃO

A Organização Mundial da Saúde (OMS) desde 1985 considera a obesidade como uma doença, por atingir índices alarmantes, tornando-se um sério problema de saúde pública no mundo (MOKDAD et al., 2003). Em países desenvolvidos como os Estados Unidos, a prevalência de sobrepeso e obesidade são de aproximadamente 65% (HEDLEY et al., 2004), tendo sido verificado que aproximadamente 300 mil adultos morrem por ano de causas relacionadas esta doença (ALLISON et al., 1999). Estima-se que no mundo cerca de 15% da população (300 milhões de pessoas) são obesas (DÂMASO, 2003). No Brasil, segundo os dados divulgados pelo IBGE (IBGE, 2004), a incidência de excesso de peso atinge 38,8 milhões de brasileiros, o que corresponde a 40,6% da população adulta. Destes, 10,5 milhões possuem IMC acima de 25 sendo considerados com sobrepeso ou obesidade, dependendo do valor do IMC.

Todavia, somente em 1992, a OMS considerou oficialmente o sedentarismo como um fator de risco “per se” para o desenvolvimento de doenças. No Brasil, um levantamento realizado em 1997, com aproximadamente 2500 pessoas adultas, revelou que 60% dos entrevistados eram insuficientemente ativos. A alta prevalência do sedentarismo superou a observada em outros fatores de risco para saúde como: Diabetes (6,9%), Hipertensão (22,3%), Tabagismo (37,9%) e Obesidade (18%) (MONTEIRO et al. 2003). A prevalência do sedentarismo o credencia como um dos principais problemas de saúde pública no mundo, pois compromete cerca de 50% a 80% da população mundial (MATSUDO et al., 2005) sendo um dos fatores diretamente relacionados com o desenvolvimento da obesidade e de suas co-morbidades.

De origem multifatorial, a obesidade é uma patologia caracterizada pelo excesso de tecido adiposo, tanto central quanto periférico, sendo associada a vários fatores de risco para o desenvolvimento de problemas cardíacos e outras doenças crônicas degenerativas, tais como dislipidemia, hiperinsulinemia, diabetes mellitus tipo II, hipertensão, aterosclerose e a esteatose hepática não alcoólica, mais recentemente incluída nessa relação, que podem levar a diminuição da expectativa de vida (FOSTER-SCHUBERT & CUMMINGS, 2006; FERRANNINI et al., 1996; MAHONEY, BURNS & STANFORD, 1996; BERENSON et al. 1998; TOCK et al., 2006). Sabe-se que a obesidade e suas co-morbidades podem ser resultantes de componentes genéticos e de fatores ambientais como hipoatividade física e alimentação inadequada, ou a interação entre eles (RANNERIES et. al., 1998, PEREIRA et al., 2003).

A obesidade pode ser considerada como uma desordem do balanço energético, isto é, quando não há o equilíbrio entre a ingestão de alimentos e o gasto energético (MARGARETO et al., 2001; TRAYHURN & BING, 2006). Neste sentido, para o tratamento desta doença, torna-se necessário manter o balanço energético negativo, isto é, diminuir a ingestão calórica e/ou aumentar o gasto energético, para promover a redução do tecido adiposo. Neste sentido, o binômio exercício físico e alimentação equilibrada representam a principal forma de tratamento não farmacológico e não invasivo, visando o controle de peso e alterações metabólicas decorrentes da obesidade.

Com relação à dieta, tem sido observado que a elevação do conteúdo lipídico pode promover inibição da atividade de enzimas da via da lipogênese e da síntese “de novo” de lipídios pelo tecido adiposo (CURI et al., 2002). Segundo Estadella (2001), frente à ingestão de dieta hiperlipídica, o exercício físico promove

diminuição do conteúdo de lipídios do fígado e melhoria do perfil lipídico, sem, no entanto, impedir o desenvolvimento da obesidade. Em estudo realizado por Sene et al., (2003), foi observado que ratos machos adultos sedentários, alimentados com dieta hiperlipídica durante três semanas, desenvolveram obesidade central, hipertrigliceridemia e hiperglicemia, quando comparados aos animais alimentados com dieta normocalórica. É importante ressaltar que a obesidade induzida por esse tipo de dieta foi classificada como hipertrófica e hiperplásica, isto é, aumenta tanto o número quanto o tamanho dos adipócitos (DÂMASO, 2003). Isto reforça a importância da associação de alimentação equilibrada e atividade física.

Considerando-se que a atividade física regular pode contribuir para a prevenção ou atenuação da obesidade, muitos pesquisadores têm estudado as alterações metabólicas conseqüentes do exercício em indivíduos e animais obesos (GAUTHIER et al., 2003; GAUTHIER et al 2004; DÂMASO et al., 2008; CARANTI et al., 2007; HOROWITZ, 1997; DUARTE et al., 2003). Inúmeras pesquisas evidenciaram que o exercício físico tem sido amplamente utilizado como um eficiente recurso para promover aumento do gasto energético. Além disto, 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-colesterol, porcentagem de gordura corporal, aumento do peso da massa magra, da taxa metabólica basal e da concentração plasmática de HDL-colesterol e Apolipoproteína A-I (GRILLO, 1994; DENADAI et al., 1996; CEZAR, 1997; VASANKARI et al., 1998; CHEIK et al., 2006).

Sabe-se que a modificação da predominância da utilização dos substratos de fonte lipídica está fortemente regulada pelo tipo, duração e intensidade

do exercício, morfologia e histologia muscular, assim como a ação hormonal e tipos de dieta ingerida (RUBY & ROBERGS, 1994; EVEN et al., 1998; HELGE, 2002; HOROWITZ, 2003). Neste sentido o consumo de dietas ricas em gordura pode promover o aumento da oxidação lipídica durante o exercício. Essa mudança seria facilitada por um aumento na lipólise, e conseqüentemente nos ácidos graxos circulantes, e uma diminuição concorrente nos estoques de glicogênio muscular e hepático (HELGE et al., 2001). Além disso, períodos longos de ingestão de dietas ricas em gordura também podem promover modificações na capacidade de recrutamento, transporte e oxidação de gordura (HELGE & KIENS, 1997). Cheng et al. (1997), em seu estudo demonstraram que a capacidade de oxidação de lipídios pelo músculo aumenta em animais exercitados e alimentados com dieta hiperlipídica durante 4 semanas. Em outro estudo, observou-se que ratos tratados com dieta de cafeteria (hiperlipídica) mobilizam mais lipídios do músculo esquelético do que animais alimentados com dieta padrão (GIANOTTI, ROCA & PALOU, 1988). O que reforça a importância da dieta na modificação da predominância da utilização dos substratos durante o exercício.

Com relação à intensidade, Dâmaso (1996) demonstrou que o exercício moderado (90 minutos) em ratas lactantes aumenta a taxa de lipólise e mantém a taxa de síntese e de captação de lipídios em tecidos adiposos brancos. Estas adaptações no metabolismo lipídico favorecem a diminuição do peso corporal, dos tecidos adiposos brancos e da área de adipócitos. Resultados de outras pesquisas evidenciaram que, decorrente do treinamento aeróbio, de baixa a moderada intensidade e longa duração, ocorre aumento progressivo da utilização de ácidos graxos livres como substrato energético, devido à maior capacidade oxidativa, ou seja, aumento da lipólise, sendo este efeito observado durante as

primeiras horas de recuperação pós-exercício (BROOKS & MERCIER, 1994; RUBY & ROBERGS, 1994, SENE et al., 2002; HELGE, 2002). Tais resultados reforçam, portanto, a importância do exercício crônico moderado sobre a menor deposição de gordura ou adiposidade.

As primeiras evidências sobre a importância do exercício acumulado foram publicadas por De Busk et al (1990) e posteriormente por Murphy & Hardman (1998) sendo divulgados e preconizados amplamente por Matsudo et al (2005). Neste sentido as pesquisas anteriormente mencionadas reforçam o princípio essencial desse protocolo de exercício baseado em seus efeitos benéficos sobre as respostas cardiovasculares em seres humanos. De acordo Matsudo et al (2005), a partir desses estudos abriram-se novas perspectivas de análise do impacto e da prescrição de exercícios físicos visando saúde.

Neste sentido foi sugerido que a atividade física ideal para “prevenir ou impedir a transição do estado de sobrepeso à obesidade”, deveria ter 30 minutos de duração em uma intensidade moderada, sendo realizada preferencialmente todos os dias (DÂMASO, 2003). Esta sugestão está de acordo com a recomendação do Center of Disease Control (CDC) e do American College of Sports Medicine (ACSM) onde: “todo cidadão deve acumular pelo menos 30 minutos de atividade física por dia, na maior parte dos dias da semana, de intensidade moderada, de forma contínua ou acumulada” (PATE, 1995), praticada com sucesso no Brasil pelo Centro de Estudos do Laboratório de Aptidão Física de São Caetano do Sul (CELAFISC) através do Programa Agita São Paulo, estimulando o acúmulo da prática de atividade física (MATSUDO, 2002; MATSUDO, 2005; MATSUDO et al., 2005),

Entretanto, quando o objetivo é perder peso, por exemplo, para obesos, essa orientação pode ser insuficiente para o controle da massa corporal

sendo necessário de 60 a 90 minutos de atividade física moderada por dia, conforme a sugestão do IOM (Institute of Medicine- USA) (DÂMASO, 2003; WHITEHEAD, 2002). Estudo realizado por Donnelly et al., (2000), reforçam essa idéia, pois foi observado que o acúmulo de 30 minutos (2 sessões de 15 minutos) de atividade física, em intensidade moderada, foi insuficiente para promover redução no peso e no percentual de gordura de mulheres obesas. Neste sentido, a dificuldade da prática do exercício nas durações ideais, devido às limitações físicas e até mesmo sociais dos obesos, aumenta o número de desistência nos programas de atividade física (BOTERO, 2003).

Diante disso, este estudo buscou associar as recomendações da acumulação de prática de atividade física, sugerida pelo CDC/ACMS, com a duração ideal para a redução de massa corporal de 90 minutos, sugerida pelo IOM, na elaboração de um novo protocolo de treinamento acumulado.

Assim, o presente estudo foi realizado para se comparar os efeitos do exercício acumulado com o contínuo sobre a adiposidade, leptinemia e gordura hepática em ratos alimentados com dieta hiperlipídica.

2. REVISÃO DA LITERATURA

Sabe-se que a obesidade pode ser decorrente tanto de fatores genéticos quanto a fatores relacionados ao estilo de vida, em ambos, seres humanos e animais experimentais. Durante décadas o tecido adiposo foi considerado o principal órgão de deposição de energia, sendo ainda considerado um sítio corporal inerte. Entretanto, esse conceito foi sendo modificado ao longo dos anos devido ao grande número de pesquisas realizadas sobre o assunto. Muitas foram as razões que tiveram papel importante na mudança do conceito do tecido adiposo órgão de estoque, dentre elas o tecido adiposo branco ser sítio primário de produção dos principais hormônios envolvidos no balanço energético, como a leptina (RAJALA et al., 2003; TRAYHURN & WOOD, 2004).

Foi com a descoberta do hormônio leptina na década de 90, que o tecido adiposo branco passou a ser considerado um órgão secretor com capacidade de regulação do balanço energético tanto em condição autócrina quanto parácrina. Assim, o tecido adiposo branco passou a ter um papel crucial na regulação do balanço energético, a partir do fato de que ele possui plena interação com o sistema neuro-endócrino assim como outros tecidos periféricos (ZHANG et al., 1994)

A função primária, no entanto, do tecido adiposo branco é regular os processos de síntese e oxidação dos lipídios, favorecendo desse modo à manutenção do balanço energético (CINTI, 2001; TRAYHURN et al., 2006; TRAYHURN & BINGS, 2006). Entretanto, entende-se por obesidade neste contexto a expansão da massa de tecido adiposo, tanto na região central/visceral quanto na periférica, que pode ser resultante do desequilíbrio entre o gasto energético advindos das atividades diárias e/ou do exercício, assim como da alta ingestão calórica, principalmente de alimentos ricos em gordura (PEREIRA et al., 2003).

O excesso de tecido adiposo, principalmente o tecido adiposo visceral apresenta-se amplamente associado ao desenvolvimento da síndrome metabólica, também denominada de síndrome plurimetabólica, quarteto da morte, síndrome dismetabólica, entre outras (DIZDAR & ALYAMAÇ, 2004; EINSTEIN et al., 2005; CARANTI et al, 2007). Entende-se por síndrome metabólica uma constelação de alterações desencadeadas principalmente por resistência ação da insulina, por hipertensão, pelas dislipidemias, e como mencionado anteriormente pelo excesso de gordura visceral. A fisiopatologia da síndrome metabólica apresenta-se intimamente associada ao fluxo de AGL do tecido adiposo visceral e por alterações na expressão de várias citocinas secretadas por esse tecido (RODRÍGUEZ et al., 2007; CLEMENT & LANGIN, 2007).

Recentemente a adiposidade visceral foi considerada o maior fator de risco pediátrico para o desenvolvimento de esteatose hepática não alcoólica, último fator incluído no elenco de alterações que constituem a síndrome metabólica. A esteatose hepática é definida como uma condição histopatológica caracterizada pelo acúmulo excessivo de lipídios, primariamente triglicerídeos, dentro dos hepatócitos. Essa patologia inclui diversas formas de esteatose, como as de origem não alcoólica (Gauthier et al.,2003).

Foi verificado ainda que o aumento de 1 centímetro no depósito de gordura visceral promove aumento de 200% no risco de desenvolvimento da esteatose hepática não alcoólica (DÂMASO et al., 2008). Estes resultados sugerem a importância de estudos que favorecem o entendimento do metabolismo do tecido adiposo visceral e hepático e sua relação com o desenvolvimento dessa síndrome.

O tecido adiposo branco possui três vias principais de regulação do metabolismo lipídico: captação dos lipídios da dieta, lipogênese e lipólise (OYAMA &

NASCIMENTO, in DÂMASO 2003). Quando a ingestão de alimentos excede o gasto energético ocorre aumento no tamanho e no número de células adiposas. Entretanto, este processo não é simples. Sabe-se que a obesidade humana é desencadeada por fatores genéticos e ambientais, no entanto, os fatores genéticos podem ser modulados não somente pelo estilo de vida adotado como também pelas condições do ambiente (LOSS & BOUCHARD, 2003).

O crescimento do tecido adiposo envolve tanto o processo de hipertrofia quanto o de hiperplasia. A hipertrofia ocorre devido ao excesso de acúmulo de triglicerídeos nos adipócitos, enquanto a hiperplasia é resultante do recrutamento de pré-adipócitos. A hipertrofia usualmente precede a hiperplasia. Sabe-se ainda que a hiperplasia do tecido adiposo apresenta-se associada a várias formas de obesidade, o que dificulta o prognóstico e o tratamento. A proliferação de adipócitos é influenciada por fatores circulatórios, impulsos neuronais, e por fatores autócrinos e parácrinos secretados pelo tecido adiposo. No entanto, os mecanismos fisiológicos ou fisiopatológicos relacionados à obesidade ainda não estão muito claros (HAUSMAN et al., 2001), necessitando então de estudos relacionados ao papel do tecido adiposo como órgão secretor, visando o controle da obesidade e suas co-morbidades.

O tecido adiposo branco como órgão secretor produz inúmeros fatores como: citocinas pró e anti-inflamatórias, proteínas, peptídeos e hormônios, enzimas, lipídios, que de forma direta ou indireta poderão participar dos processos de regulação não somente do metabolismo lipídico, mas também dos mecanismos moduladores do desenvolvimento ou do controle de inúmeras co-morbidades relacionadas ao excesso de tecido gorduroso (TRAYHURN et al., 2006; DIZDAR & ALYAMAÇ, 2004).

Entre os vários fatores que regulam o balanço energético, a leptina representa o papel crucial na modulação deste fenômeno, modulando tanto a ingestão alimentar, através da sua atuação nas células do núcleo arqueado do hipotálamo no sistema nervoso central (FRÜHBECKG et al., 2001; FRIEDMAN, 2002), quanto no gasto energético periférico (DÂMASO, 2006). Derivada do grego *leptos* a palavra leptina significa magro (BRAY, 1997; AUWERX & STAELS, 1998). É um hormônio peptídico formado por 167 aminoácidos, transcrito a partir do gene *ob*, originalmente clonado em camundongos (ZHANG et al., 1994). Com características estruturais de citocina, esse hormônio é sintetizado no estômago (NISHI et al., 2005), na placenta (HASSINK et al., 1997), na glândula mamária (SMITH-KYRWIN et al., 1998), mas predominantemente pelo tecido adiposo branco em relação proporcional direta à massa corporal deste tecido (ZHANG et al., 1994). Sendo que sua produção no tecido adiposo subcutâneo é maior do que no tecido adiposo visceral (LEIBEL, 2002; CONSIDINE et al., 2000).

Diversos fatores e substâncias podem influenciar os níveis de leptina diminuindo, como é o caso do jejum prolongado, ou aumentando, como é o caso do consumo excessivo de alimentos (KOLACZYNSKI et al., 1996). Assim como a composição da dieta, especialmente dos macro-nutrientes (JENKINS et al., 1997) e micro-nutrientes (MANTZOROS et al., 1998) e de fatores hormonais (WABITSCH et al., 1996).

A redução do apetite, promovida pela atuação da leptina, ocorre através da inibição da liberação de neuropeptídeos relacionados ao apetite, como o neuropeptídeo Y (NPY) e o peptídeo relacionado à proteína Agouti (AGRP), que são peptídeos orexígenos (FRIEDMAN, 2002). Além disso, a leptina atua também através do aumento da expressão e liberação de neuropeptídeos anorexígenos,

como hormônio estimulante de melanócito (α MSH), o hormônio liberador de corticotropina (CRH) e substâncias sintetizadas em resposta à anfetamina e cocaína, no sistema nervoso central. Desta forma, altos níveis de leptina reduzem a ingestão alimentar (hipofagia) enquanto baixos níveis induzem a hiperfagia, justificando o fato desse hormônio ser também denominado de “hormônio da saciedade” (BRAY, 1997).

Os avanços na caracterização dos mecanismos de ação da leptina no hipotálamo logo revelaram que a transdução do sinal deste hormônio sofre importante controle por vias paralelas de sinalização celular, sendo que, até o presente momento, a insulina se destaca como o principal modulador do sinal da leptina (CARVALHEIRA et al., 2001; CARVALHEIRA et al., 2003; CARVALHEIRA et al., 2005). Desta forma, para que se compreendam os efeitos da leptina sobre o controle hipotalâmico da fome e termogênese, é necessário que se conheçam também as ações da insulina neste sítio anatômico.

O tecido adiposo marrom (TAM) em seres humanos e em animais experimentais tem como função principal o aumento na termogênese, utilizando como principal substrato energético os ácidos graxos (KELLY et al., 1998). A termogênese nesse tecido pode ser agudamente induzida por administração de hormônios da tireóide (REITMAN et al., 1999), por estimulação do sistema nervoso simpático (SELL et al., 2004), pelo frio, bem com ingestão alimentar (CINTI, 2005). Esse tecido possui a UCP1 (proteína desacopladora da função fosforilativa mitocondrial), também denominada de termogenina, que nas condições anteriormente mencionadas participam efetivamente na modulação da termogênese dos animais (MARGARETO et al., 2001; SULLO et al., 2004; WESTERTERP, 2004).

Neste sentido, Oh-ishi et al (1996) demonstraram que o exercício de natação foi capaz de melhorar a atividade termogênica do tecido adiposo marrom de camundongos, independentemente da idade. Outro estudo, que comparou os efeitos do exercício moderado de natação com aqueles realizados em esteira demonstrou que somente o exercício de natação foi capaz de promover aumento na massa do tecido adiposo marrom, indicando aumento na sua atividade termogênica tanto pela manutenção da temperatura corporal do animal, quanto pelo exercício “per se” (PAVAN et al., 2003).

O gene (*ob*) do rato e do ser humano são estruturalmente semelhantes (WAJCHENBERG, 2000; MATSON et al., 1996). Vários estudos em roedores sugerem que a leptina age como fator de sinalização do tecido adiposo ao sistema nervoso central, regulando então a ingestão alimentar e o gasto energético. Acredita-se ainda que esta via de sinalização possua mecanismos de *feedback*, capazes de modular a homeostase energética para que seja preservada a massa adiposa (CARO et al., 1996). Em humanos, existe uma correlação positiva forte entre a concentração de leptina e a massa adiposa, assim como observado em roedores (CARO et al., 1996; MAFFEI et al., 1995). Estes estudos estão de acordo com pesquisas *in vitro* indicando que secreção de leptina é um reflexo da hipertrofia dos adipócitos. Os adipócitos são a única fonte expressora do gene (*ob*) da leptina, pois os pré-adipócitos não possuem essa capacidade (MATSON et al., 1996).

Em estudos realizados em adipócitos isolados do tecido adiposo omental e subcutâneo, em não obesos e obesos, verificou-se que o mRNA da leptina é mais presente no tecido adiposo subcutâneo comparado com o omental (MONTAGUE et al., 1997). Verificou-se ainda que a expressão gênica da leptina apresenta-se maior em mulheres do que em homens. Estes resultados parcialmente

explicam o fato dos adipócitos da região subcutânea serem maiores em até 50% comparados aos observados na região omental, particularmente em mulheres (HAMILTON et al., 1995; Van HARMELEN et al., 1998). Outros estudos demonstraram que a secreção e expressão de leptina apresentam-se de duas a três vezes maiores no tecido adiposo subcutâneo comparado ao omental, tanto em indivíduos obesos quanto em eutróficos (Van HARMELEN et al., 1998).

A leptina é regulada não somente pela massa de tecido adiposo, mas também por fatores nutricionais e hormonais, com citado anteriormente. Mudanças agudas no balanço energético participam na regulação da quantidade de leptina circulante. De fato, o aumento na ingestão calórica pode resultar em até 40% de aumento na leptinemia em até 12 horas, sem, no entanto modificar a massa corporal (KOLACZYNSKI et al., 1996). Por outro lado, tanto a expressão quanto à concentração circulante de leptina respondem rapidamente ao jejum, com a concentração circulante de leptina iniciando o seu declínio após 12 horas de alimentação (TRAYHURN et al., 1995; BODEN et al., 1996). Assim, em condições de balanço energético estável ou ainda em situações de desequilíbrio a leptina torna-se um índice estático da quantidade de TG estocado no tecido adiposo (GIACCHETTI et al., 1998).

Quanto a isto se verificou que em situações extremas como na obesidade mórbida pode ocorrer hiperleptinemia, podendo ser ainda verificado nessas condições um quadro de resistência à ação desse hormônio. Assim tanto a sinalização neural no hipotálamo pela leptina para a inibição da fome, bem como sua sinalização periférica para o aumento do gasto energético poderia estar alterada. De fato, estudos recentes de nosso grupo de estudo demonstraram que a maioria de obesos mórbidos de origem exógena, com aproximadamente 50% de gordura

corporal mensurada pela densitometria óssea apresentou hiperleptinemia, revertida parcialmente por tratamento multidisciplinar em longo prazo, incluindo a reeducação alimentar e o exercício físico (DÂMASO et al., 2006).

Para o melhor entendimento das alterações metabólicas relacionadas à obesidade e suas co-morbidades, muitos estudos experimentais têm utilizado dietas ricas em gordura como modelo de desenvolvimento da obesidade exógena em animais (BERRAONDO et al., 2000; ESTADELLA et al., 2004; GAUTHIER et al., 2003, DUARTE et al., 2003, DUARTE et al., 2006, BURNEIKO et al., 2006; DINIZ et al., 2004). Quanto a isso em estudo recente realizado por nosso grupo de estudo demonstrou em modelo experimental que a dieta hiperlipídica foi efetiva no desenvolvimento da obesidade visceral, das dislipidemias e da esteatose hepática não alcoólica, demonstrando ser esse tipo de dieta um modelo viável para o estudo de vários fatores relacionados à síndrome metabólica em ratos (DUARTE et al., 2008). Neste mesmo estudo, verificou-se que a restrição calórica apresentou-se como uma estratégia importante para o controle de alterações metabólicas relacionadas à obesidade, no entanto, após realimentação não impediu o desenvolvimento das dislipidemias.

Verificou-se ainda decorrente de modelos experimentais utilizando-se ratos alimentados com dieta hiperlipídica a ocorrência da resistência a ação da leptina. Nestas condições experimentais, a capacidade de máxima sinalização hipotalâmica da leptina apresentou-se diminuída, promovendo modificações indesejáveis na regulação da homeostase energética, favorecendo maior consumo de energia, maior ganho de peso, maior deposição de gordura visceral comparados a ratos controles. Essas alterações desencadearam ainda hipersensibilidade insulínica criando então um elenco de fatores que favorecem maior deposição de

gordura corporal. Estes autores assumiram que a partir dos resultados obtidos, a resistência leptínica pode ser considerada tanto causa quanto efeito da obesidade (SCARPACE et al., 2005).

O desenvolvimento da obesidade por dieta hiperlipídica promove resistência leptínica que em situações de *feedback* negativo exacerba a obesidade, levando a um ciclo vicioso de perpetuação dessa doença, além disso, este tipo de dieta promove alteração na regulação central da homeostase energética. Tipicamente, modelos experimentais de dieta hiperlipídica são caracterizados por um aumento inicial da ingestão calórica. A resposta homeostática é iniciada na tentativa de restabelecer o padrão de ingestão alimentar pré-tratamento (WILSEY et al., 2003). No entanto, a inabilidade para o restabelecimento desse padrão alimentar prévio pode ser o fator crucial para o aumento no ganho de massa corporal, adiposidade e resistência leptínica, que ocorre a partir da alta ingestão de gordura, em modelos experimentais como anteriormente mencionado.

Estes elencos de alterações tanto em modelos experimentais quanto em seres humanos estimulam novas investigações na tentativa de reduzir a alta prevalência não somente da obesidade como de suas co-morbidades decorrentes de dietas hiperlipídicas.

Neste sentido, estratégias terapêuticas não medicamentosas são utilizadas para o controle da obesidade e suas co-morbidades, incluindo o exercício e o controle nutricional de forma associada ou isolada. No entanto, a associação entre o exercício e orientações para reeducação alimentar apresentam-se mais efetivos do que a utilização dos mesmos de forma isolada. Quanto a isso, em estudo recente de nosso grupo de pesquisa, observou-se que 27% dos adolescentes obesos apresentaram a síndrome metabólica, a qual foi reduzida para 3% após um

ano de intervenção nutricional e exercício físico (CARANTI et al., 2007). Este mesmo tipo de tratamento demonstrou ser efetivo em reduzir de 60% para 29% a prevalência da esteatose hepática não alcoólica (TOCK et al., 2006).

Uma questão importante, no entanto, é tentar responder qual é o melhor tipo de exercício para o controle da obesidade e co-morbidades? Quanto a isto se verificou em modelo experimental em ratos alimentados com dieta hiperlipídica e submetidos ao treinamento em esteira, cinco vezes por semana durante oito semanas, que o exercício físico foi capaz de prevenir o desenvolvimento de esteatose hepática induzida por este tipo de dieta (GAUTHIER et al. 2003). Entretanto, outros estudos utilizando dietas hiperlipídicas em modelos experimentais, falharam em demonstrar os efeitos do exercício na redução do acúmulo de gordura hepática (STRACZKOWSKI et al., 2001; GAUTHIER et al., 2004). As razões dessas discrepâncias não são claras, embora se acredite que os diferentes protocolos de exercício e dieta sejam os principais fatores.

Em estudo recente realizado com protocolo agudo de exercício verificou-se que, mesmo esse tipo de exercício pode promover melhora na sensibilidade insulínica e leptínica no hipotálamo de ratos alimentados com dieta hiperlipídica, aumentando a fosforilação hipotalâmica desses hormônios sem, no entanto modificar a expressão gênica desses hormônios no hipotálamo (FLORES et al., 2006).

A resistência insulínica periférica pode ser alterada pelo metabolismo dos nutrientes, modulado por adipocinas que apresentam papel crucial não somente na etiologia da resistência insulínica, da obesidade, diabetes, por influenciar tanto o metabolismo de lipídios quanto o de carboidratos. Dentre elas, destaca-se a adiponectina plasmática que está positivamente associada ao aumento na

sinalização insulínica no músculo (RESELAND et al., 2001) e à redução no risco de desenvolvimento de diabetes (SPRANGER et al., 2003).

Neste sentido, verificou-se que o exercício pode melhorar a resistência a ação da insulina por modular a função de adipocinas assim como a concentração circulante dos mesmos, incluindo-se a adiponectina, o TNF- α , a resistina, a Interleucina 6 e a leptina (BERGGREN et al., 2005). Essa modulação promovida pelo exercício ainda possui resultados conflitantes na literatura, pois alguns estudos reportam redução na concentração de leptina (BERGGREN et al., 2005; ELIAS et al., 2000) e outros relatam que não houve alteração na concentração desse hormônio (BERGGREN et al., 2005; CHRISTENSEN et al., 1998; HOUMARD et al., 2000). Por outro lado, a perda de peso *per se* também promove redução na concentração circulante desse hormônio (CHRISTENSEN et al., 1998; RESELAND et al., 2001), reforçando a correlação entre a concentração desse hormônio e a massa adiposa, tanto para seres humanos quanto para roedores, como previamente citados neste capítulo. Fato este que poderia explicar parcialmente os diferentes efeitos do exercício sobre a regulação da concentração plasmática de leptina.

Sabe-se que o controle da massa corporal está diretamente relacionado ao balanço energético que é a relação entre a energia ingerida e a energia oxidada e tendo como principais componentes desse sistema a ingestão alimentar e o gasto energético. A Taxa Metabólica basal (TMB), o efeito térmico dos alimentos, a termogênese e o exercício compõem o gasto energético. Sendo o exercício o que possui maior variabilidade e facilidade manipulação de todos os componentes do gasto energético (TOU & WADE, 2002).

Em estudo recente, adolescentes obesos com distúrbios alimentares que realizaram exercício moderado três vezes por semana, durante seis meses,

associado à reeducação alimentar apresentaram redução na massa corporal, no percentual de gordura corporal e também na adiposidade visceral (CARNIER et al., 2008). Outro estudo recente demonstrou em mulheres obesas jovens redução na concentração circulante de citocinas pró-inflamatórias, como a proteína C reativa e o $TNF\alpha$, Leptina, assim como promoveu redução da massa corporal adiposa e aumento no HDL-colesterol e adiponectina. Os autores concluíram que sete meses de exercício de 30 a 60 minutos por dia, em intensidade moderada, pode melhorar o estado metabólico dos indivíduos, sendo recomendado que essas variáveis deveriam ser incluídas na avaliação e prescrição do exercício (KONDO et al., 2006). No entanto, outros estudos analisados em uma revisão recente da literatura, falharam em demonstrar os efeitos isolados do exercício sobre as citocinas pró e anti-inflamatórias, uma vez que esses efeitos somente foram observados em decorrência do emagrecimento (BERGGREN et al, 2005).

Como demonstrado anteriormente, pesquisas com seres humanos geralmente são controversas devido às diferenças metodológicas e protocolos utilizados, assim como inúmeros fatores como: genéticos, interação gene-meio ambiente, biológicos, psicológicos, socioeconômicos que podem influenciar os resultados obtidos (TOU & WADE, 2002). Neste sentido, estudos experimentais têm sido amplamente utilizados para o entendimento da obesidade e de suas comorbidades.

Em estudo recente realizado pelo nosso grupo de pesquisa observou-se que, tanto o exercício contínuo moderado de natação, realizado em cinco sessões semanais quanto em duas sessões semanais (simulando exercícios de “final de semana”), promoveram redução da área de adipócitos e da

hipercolesterolemia dos animais. No entanto, os autores reforçaram que o exercício em maior frequência foi mais efetivo (GUERRA et al., 2007).

Em ratos alimentados com dieta hiperlipídica e submetidos ao exercício moderado em esteira (60 minutos), observou-se redução na massa corporal, na trigliceridemia, no peso do tecido adiposo branco e acúmulo de gordura hepática (GAUTHIER et al, 2003). Estudo mais recente demonstrou que o exercício intermitente (6 sessões de 2 minutos, com intervalo de 5 minutos) em ratos alimentados com dieta de cafeteria, mesmo sendo este de curta duração, foi capaz de diminuir a adiposidade e impedir o ganho de massa corporal (KRETSCHMER et al., 2005).

3. OBJETIVO

3.1 Geral

Comparar os efeitos do exercício contínuo com o acumulado sobre o controle da adiposidade visceral, leptinemia e gordura hepática em ratos alimentados com dieta hiperlipídica.

3.2 Específicos

Identificar e comparar os efeitos do exercício contínuo ou acumulado em ratos alimentados com dieta hiperlipídica e normocalórica sobre:

- Consumo Alimentar;
- Eficiência Alimentar
- Ganho de Massa Corporal;
- Peso Relativo dos Tecidos;
- Percentual de Gordura dos Tecidos;
- Taxa de Síntese de Lipídeos;
- Captação de Lipídeos da Dieta;
- Concentração Plasmática de Leptina;
- Concentração plasmática de Colesterol Total;
- Concentração plasmática de HDL-colesterol;
- Concentração plasmática de Triglicerídeos;

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. *Animais e Condições Experimentais*

Para a realização deste estudo foram utilizados 96 ratos machos adultos, com aproximadamente 90 dias, da Linhagem Wistar, pesando entre 220 ± 10 g, procedentes do Biotério Central da Universidade Federal de São Carlos.

Os animais foram mantidos em gaiolas individuais, no biotério do Laboratório de Nutrição e Metabolismo, do Departamento de Educação Física e Motricidade Humana, da Universidade Federal de São Carlos, com temperatura constante ao redor de 24o C e fotoperíodo artificial de 12/12 horas, sendo fornecida dieta e água ad libitum durante todo o protocolo experimental. Este projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética desta Instituição (Anexo).

4.2. *Desenho Experimental*

Os animais foram subdivididos nos seguintes grupos experimentais:

Sedentários:

Sedentário Controle - (SP): animais mantidos sedentários e alimentados com dieta padrão, durante 8 semanas.

Sedentário Hiperlipídico -(SH): animais mantidos sedentários e alimentados com dieta hiperlipídica, durante 8 semanas.

Exercitados:

Exercitado Contínuo – Dieta Padrão (ECP): Animais exercitados e alimentados com dieta padrão, durante 8 semanas.

Exercitado Contínuo – Dieta Hiperlipídica (ECH): Animais exercitados e alimentados com dieta hiperlipídica, durante 8 semanas.

Exercitado Acumulado – Dieta Padrão (EAP): Animais exercitados e alimentados com dieta padrão.

Exercitado Acumulado - Dieta Hiperlipídica (EAH): Animais exercitados e alimentados com dieta hiperlipídica durante 8 semanas.

4.3. Composição da Dieta Padrão

Ração balanceada da marca PRIMOR (São Paulo, Brasil) que continha: 23 % de proteína, 49% de carboidrato, 4 % de gordura, 5% de fibra, 7 % de cinza, e 6 % de vitaminas, conforme fornecido pelo fabricante.

4.4. Composição da Dieta Hiperlipídica

Esta dieta hiperlipídica foi previamente padronizada por Estadella (2001), como uma dieta capaz de desenvolver obesidade em ratos. Foi constituída pela mistura de Ração balanceada da marca PRIMOR, amendoim torrado, chocolate ao leite e bolacha maisena, na proporção de 3:2:2:1, contendo aproximadamente 20% de proteína, 20% de gordura, 48% de carboidrato, 4% de fibra.

O conteúdo energético da dieta hiperlipídica foi de 21,40 KJ/g, perfazendo 4,37 KJ/g a mais do que a dieta padrão que será utilizada (17,03 KJ/g).

4.5 Protocolo do Exercício Físico

Os animais dos submetidos ao exercício contínuo (EC) realizaram exercício aeróbio moderado (natação), com duração de 90 minutos, com frequência de 05 vezes por semana, durante 08 semanas, em tanques individuais (50 cm de altura x 30 cm de diâmetro) sendo a água mantida na temperatura aproximada de 32°C e trocada diariamente.

Para a adaptação ao treinamento, no primeiro, segundo e terceiro dias de treinamento os ratos nadaram, respectivamente, por 30, 60 e 90 minutos sem adição de carga. Do quarto dia em diante, os animais nadaram por 90 minutos, com adição de sobrecarga atada à cauda (3 a 5% do peso corpóreo), para que o animal não flutuasse e se mantivesse em atividade durante todo o período estipulado, e garantindo a realização do exercício em intensidade moderada (VOLTARELLI et al., 2002) . Este procedimento foi previamente padronizado por Dâmaso (1996).

Os animais submetidos ao exercício acumulado (EA), também realizam exercício aeróbio moderado (natação), em 3 sessões diárias de 30 minutos cada, com frequência de 05 vezes por semana, durante 08 semanas. Os intervalos entre as sessões foram de 4 horas, período necessário para que a taxa de lipogênese retorne aos valores basais (SENE et al., 2002).

A adaptação ao treinamento foi realizada da seguinte forma: no primeiro, segundo e terceiro dias de treinamento os ratos nadaram as três sessões, respectivamente, por 10, 20 e 30 minutos sem adição de carga. Do quarto dia em

diante, os animais nadaram por 30 minutos, com adição de sobrecarga atada à cauda, como descrito anteriormente.

4.6 Controle da Massa Corporal e Consumo Alimentar

A massa corporal de cada animal foi mensurada diariamente, durante todo o período experimental, sendo posteriormente calculado o ganho de massa corporal segundo a equação descrita a seguir.

$$\text{Ganho de Massa Corporal (g)} = \text{Massa Corporal Inicial (g)} - \text{Massa Corporal Final (g)}$$

O consumo alimentar diário, foi calculado através da diferença de peso entre a ração ofertada e o resto, sendo também posteriormente calculada a eficiência alimentar dos animais através da fórmula abaixo descrita.

$$\text{Eficiência Alimentar} = \text{Ganho de Massa (g)} / \text{Consumo Alimentar Total (g)}$$

Os valores obtidos para cada variável foram anotados em fichas individuais.

4.7. Experimentos e Coleta de Amostras

Os animais foram sacrificados por decapitação em guilhotina ao final de 8 semanas de tratamento sendo os animais treinados sacrificados 24 horas após a última sessão de exercício.

O sangue, os tecidos adiposos brancos retroperitoneal (RET) e epididimal (EPI) e visceral (VIS), o tecido adiposo marrom interescapular (TAM), músculo gastrocnêmio (GAST), o fígado (FIG) e o Trato Gastrointestinal (TGI) foram coletados, pesados e estocados em freezer a -20°C para posteriores análises bioquímicas (CINTI, 2005).

4.8. Análises Bioquímicas

4.8.1. 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 50 minutos antes do sacrifício. 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, retroperitoneal e visceral, tecido adiposo marrom, fígado e músculo gastrocnêmio foram colocados, em triplicata, em tubos contendo 3 ml de hidróxido de potássio 30% que foram aquecidos em banho-maria a 70°C por 15 minutos para a digestão e saponificação. A seguir, foi

adicionado 3 ml de etanol absoluto e os tubos ficaram em banho-maria a 70 °C por mais 1 hora e 45 minutos, para a total hidrólise dos triglicerídeos, ésteres de colesterol e fosfolipídios. Posteriormente, os tubos foram resfriados e foram adicionados 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 (8ml, 6ml e 4 ml respectivamente). O produto das extrações foi lavado com 2 ml de água destilada e em seguida transferido para frascos de cintilação que foram previamente pesados, e permaneceu em capela a temperatura ambiente até a total evaporação do éter de petróleo, sendo o frasco novamente pesado (peso final do frasco). 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 μmol de $^3\text{H}_2\text{O}$ incorporada em lipídios/g de tecido.

4.8.2. Determinação da Captação de Lipídios da Dieta

Administração de ^{14}C -trioleína e coleta de amostras:

No dia do sacrifício os animais foram anestesiados com éter etílico, sendo em seguida administrada uma solução de ^{14}C -trioleína, via oral (gavagem; 0,5 g/rato, 0,3 μCi /rato), através de uma cânula de polietileno de 10 cm, conectada a uma seringa. Concomitante a administração de substratos nos animais, alíquotas de 20 μl deste foram colocadas em 5ml de líquido de cintilação para contagem da

radioatividade administrada. Após quatro horas da administração de ^{14}C -trioleína, os animais foram sacrificados conforme anteriormente descrito.

Determinação de ^{14}C -lipídios Absorvidos e Acumulados nos tecidos:

Para a medida da porcentagem de ^{14}C -lipídios absorvidos o trato gastrointestinal foi homogeneizado em água na proporção 1:2 (peso: volume). Alíquotas do homogenato (aproximadamente 3g) foram utilizadas para a extração de lipídios. Para a determinação do acúmulo de ^{14}C -lipídios nos outros tecidos estudados, aproximadamente 1 grama dos respectivos tecidos foram colocados em tubos contendo 3 ml de KOH 30% para saponificação e posterior hidrólise dos triglicerídeos pela adição de etanol absoluto. Os tubos permaneceram em banho-maria por duas horas a 70° para a hidrólise total dos triglicerídeos. Em seguida os tubos foram esfriados e neles foram acrescentados 2,5 ml de H_2SO_4 6N. Os lipídios totais foram extraídos com éter de petróleo, segundo o método gravimétrico descrito por Stansbie et. al., (1976).

O sobrenadante contendo os lipídios totais foi lavado com 2 ml de água destilada e transferido para o frasco de cintilação previamente pesado, sendo mantidos em capela até que o solvente fosse totalmente evaporado, sendo o frasco novamente pesado (peso final do frasco). Após esse período, foi adicionado 5 ml de líquido de cintilação, contendo tolueno-antarox (2:1 v/v), PPO 0,01% e POPOP 0,26%, para a contagem da radioatividade dos ^{14}C -lipídios acumulados nos respectivos tecidos. A quantidade total de radioatividade absorvida foi o valor encontrado entre a subtração da radioatividade total administrada e a remanescente no trato gastrointestinal. Este procedimento seguiu o protocolo descrito previamente

por Oller do Nascimento & Williamson (1988) e mais recentemente por Gaíva et al. (2001). Os valores foram expressos como % ^{14}C – lipídeos acumulados/g de tecido por hora.

4.8.3. Determinação do Percentual de Gordura dos Tecidos

O Percentual de Gordura dos Tecidos foi determinado através da seguinte equação:

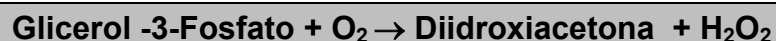
$$\text{Percentual de Gordura (\%)} = \frac{[\text{Peso Final do Frasco de Cintilação (g)} - \text{Peso do Frasco de Cintilação Vazio (g)}] \times 100}{\text{Peso da Amostra de Tecido utilizada (g)}}$$

4.9. Análises Bioquímicas do Soro

As determinações bioquímicas do soro foram realizadas por Kits Enzimáticos-Colorimétrico (CELM, Barueri, Brasil) específicos para cada análise, sendo lidos em espectrofotômetro.

4.9.1 Triglicérides (GPO-POD)

Esta metodologia tem como princípio o fato de uma lipase específica hidrolisar os triglicerídeos produzindo glicerol e ácidos graxos. O glicerol é fosforilado com ATP na presença de Glicerolquinase formando Glicerol 3 fosfato. Este é oxidado liberando H_2O_2 na presença de 4 Aminoantipirina e 4 Clorofenol, dá lugar à formação da Antipirilquinonimina, com um máximo de absorção em 505 nm, segundo o seguinte esquema de reação:

LIPASE DA LIPOPROTEÍNA**GLICEROLQUINASE Mg^{++}** **GLICEROL-3-FOSFATO OXIDASE****PEROXIDASE**

A intensidade da cor vermelha formada é diretamente proporcional à concentração dos triglicérides da amostra. A determinação será realizada no plasma com EDTA e serão considerados aceitáveis os valores de referência segundo TRINDER (1997).

4.9.2 Colesterol Total (COE/COD/POD)

Esta metodologia tem como princípio a oxidação enzimática do colesterol pela colesterol oxidase, com prévia hidrólise enzimática dos ésteres, mediante uma lipase de origem funga (KAPLAN, 1989). A água oxigenada gerada na oxidação, produz a copulação oxidativa do fenol com a 4 aminofenazona (4-AF), catalisada pela peroxidase, com formação de uma quinonimina vermelha, com um máximo de absorção em 505 nm, segundo o seguinte esquema de reação:

COLESTEROL ESTERASE**COLESTEROL OXIDASE**

PEROXIDADE



4.9.3. HDL (*HDL-Colesterol*)

Trata-se de um método baseado em uma inibição seletiva das lipoproteínas não HDL. O sistema utiliza dois reagentes; o primeiro contém um poliânion que forma complexos estáveis com a superfície das LDL e VLDL e dos quilomícrons. Os complexos formados com as partículas do HDL se desestabilizam e se solubilizam por ação de um detergente, permitindo a reação com as enzimas presentes no segundo reagente. Como somente o colesterol HDL fica sujeito à ação das enzimas, a cor resultante da segunda reação é diretamente proporcional à concentração do HDL da amostra, especificamente (WESTEGARD & GROTH, 1981).

4.9.4 Leptina

A concentração plasmática de leptina foi determinada através do método de radioimunoensaio com a utilização do kit RIA leptina para ratos da marca Linco© (Linco Research - ST. Charles, Missouri, U.S.A.), seguindo todas as recomendações do fabricante.

O método baseia-se na competição entre, a leptina marcada com ^{125}I e leptina fria, para a ligação com o anticorpo anti-leptina. A quantidade de hormônio radioativo foi mantida constante, sendo que a formação do complexo hormônio marcado-anticorpo é inversamente proporcional à concentração do complexo leptina fria-anticorpo. Deste modo, após a separação total do hormônio radioativo livre, a

radioatividade emitida pela amostra foi mensurada por meio de um contador de raios gama (modelo ANSR-ABBOTT).

Uma curva foi elaborada utilizando diferentes concentrações de padrão de leptina de rato a qual permitiu a realização do cálculo da concentração sérica deste hormônio. Os valores estão expressos em ng/ml. Estas dosagens foram realizadas no Laboratório de Neuroendocrinologia do Departamento de Ciências Fisiológicas - UFSCar.

4.10. Tratamento Estatístico dos Dados

Os resultados estão expressos em média e erro padrão. Para a análise dos dados foi utilizado o programa InStat para Windows (GraphPad, San Diego, CA, EUA, 1998). As comparações estatísticas foram feitas através de análise de variância, sendo considerado significativo $p < 0,05$. Os resultados significantes da análise de variância foram submetidos à análise *post hoc* Tukey-Kramer de comparação múltipla.

5. RESULTADOS

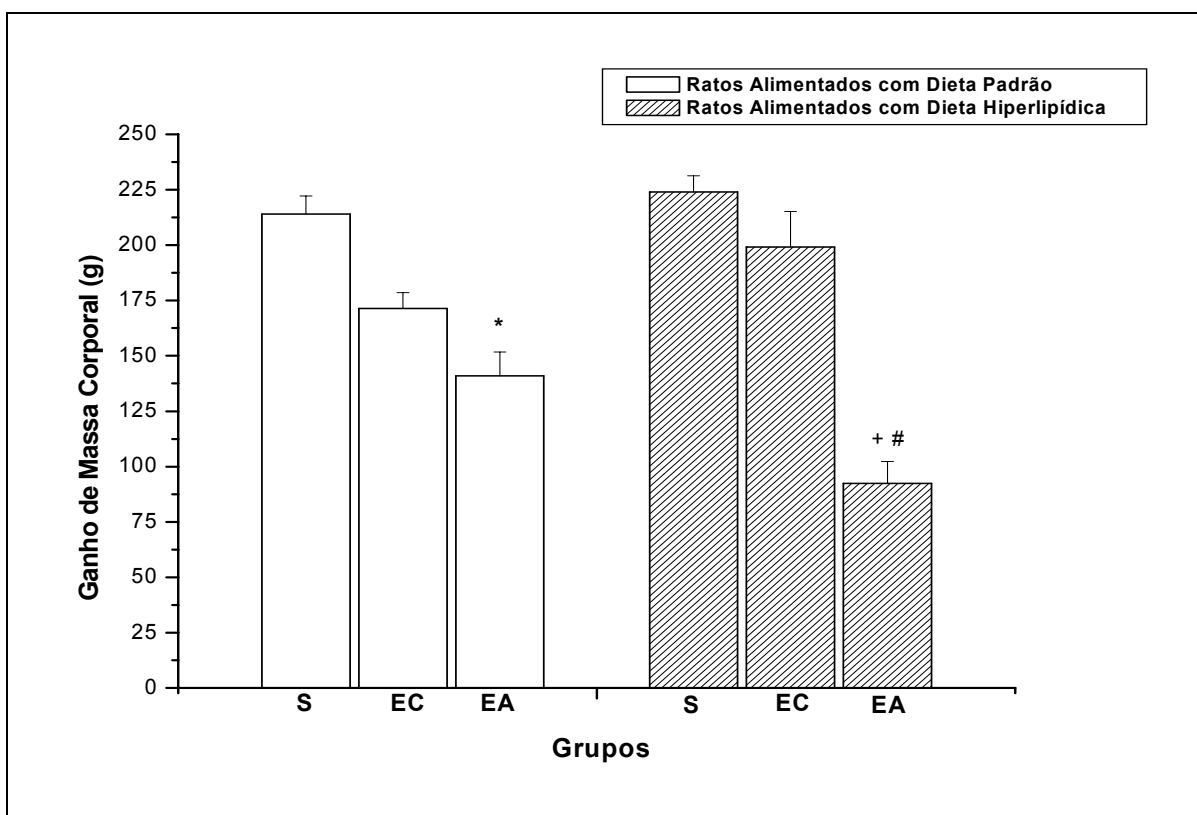
5.1 Ganho de Massa Corporal

Analisando-se o ganho de massa corporal total (g), verifica-se que não houve diferença significativa quando comparado o efeito das diferentes dietas e do exercício contínuo. No entanto, observa-se aumento de 4,67% nos animais sedentários alimentados com dieta hiperlipídica. Já nos animais submetidos ao exercício contínuo observa-se redução de 19,9% e 11,05% no ganho de peso, quando alimentados com dieta padrão e hiperlipídica respectivamente.

Por outro lado, o exercício acumulado apresentou redução significativa no ganho de peso (g) na vigência das duas dietas, quando comparados aos respectivos grupos sedentários (Figura 1). Esta redução foi na ordem de 34,17% e 58,74% na vigência da dieta padrão e hiperlipídica respectivamente.

5.2 Consumo Alimentar

O consumo alimentar foi menor e a ingestão calórica maior nos animais sedentários alimentados com dieta hiperlipídica quando comparados aos animais sedentários alimentados com dieta padrão, conforme pode ser observado na Tabela 1. Não foi observada diferença significativa na ingestão calórica entre os grupos exercitados e seus respectivos grupos controles. Apesar disso, o exercício acumulado quando associado à dieta hiperlipídica promoveu menor consumo alimentar (g) tanto em relação ao grupo sedentário quanto ao submetido ao exercício contínuo (Tabela 1).



Valores expressos em média \pm erro padrão da média (n=8). Símbolos indicam diferenças significativas $p < 0.01$ (Tukey-Kramer Test). * Versus SP; + versus SH; § versus ECP; # versus ECH; onde SP, ratos sedentários alimentados com dieta padrão; SH, ratos sedentários alimentados com dieta hiperlipídica; ECP, ratos submetidos ao exercício contínuo e alimentados com dieta padrão; ECH, ratos submetidos ao exercício contínuo e alimentados com dieta hiperlipídica; EAP, ratos submetidos ao exercício acumulado e alimentados com dieta padrão; EAH, ratos submetidos ao exercício acumulado e alimentados com dieta hiperlipídica.

Figura 1. Efeito dos Exercícios Contínuo e Acumulado e da Dieta Hiperlipídica sobre o Ganho de Massa Corporal dos animais.

5.3 Eficiência Alimentar

Verifica-se ainda na Tabela 1, que houve aumento significativo da eficiência alimentar no sedentário alimentado com dieta hiperlipídica, quando comparado ao grupo sedentário alimentado com dieta padrão (SP $0,14 \pm 0,009$; SH

0,17±0,01*). O dois tipos de treinamento quando associados à dieta padrão apresentaram redução significativa na eficiência alimentar quando comparados ao grupo sedentário (SP 0,14±0,009; ECP 0,11±0,01* ; EAP 0,09±0,01*). Com relação ao tipo de treinamento, a eficiência alimentar do grupo exercitado acumulado apresentou-se significativamente menor do que a observada no grupo exercitado contínuo (ECP 0,11±0,01; EAP 0,09±0,01§).

Na vigência da dieta hiperlipídica apenas o exercício acumulado foi capaz de promover redução significativa na eficiência alimentar dos animais, comparando-se à observada nos grupos: sedentário e exercitado contínuo (SH 0,17±0,01; ECH 0,17±0,02; EAH 0,09±0,02+##).

Tabela 1. Efeito dos Exercícios Contínuo e Acumulado e da Dieta Hiperlipídica sobre o Consumo Alimentar, Ingestão Calórica e Eficiência Alimentar dos animais.

Grupos	Consumo Alimentar (g)	Ingestão Calórica (Kcal)	Eficiência Alimentar
SP	1544.60±19.40	6062.90±73.47	0.14±0.009
ECP	1520.20±23.44	6332.20±130.32	0.11±0.01*
EAP	1523.50±24.66	5960.50±125.30	0.09±0.01*
SH	1357.90±19.68*	6903.40±99.90*	0.17±0.01*
ECH	1417.10±37.83	6765.20±131.60	0.17±0.02*
EAH	1283.30±36.40*+	6613.30±182.71	0.09±0.02*+##

Valores expressos em média ± erro padrão da média (n=8). Símbolos indicam diferenças significativas p<0.01 (Tukey-Kramer Test). * Versus SP; + versus SH; § versus ECP; # versus ECH; onde SP, ratos sedentários alimentados com dieta padrão; SH, ratos sedentários alimentados com dieta hiperlipídica; ECP, ratos submetidos ao exercício contínuo e alimentados com dieta padrão; ECH, ratos submetidos ao exercício contínuo e alimentados com dieta hiperlipídica; EAP, ratos submetidos ao exercício acumulado e

alimentados com dieta padrão; EAH, ratos submetidos ao exercício acumulado e alimentados com dieta hiperlipídica.

5.4 Peso Relativo dos Tecidos

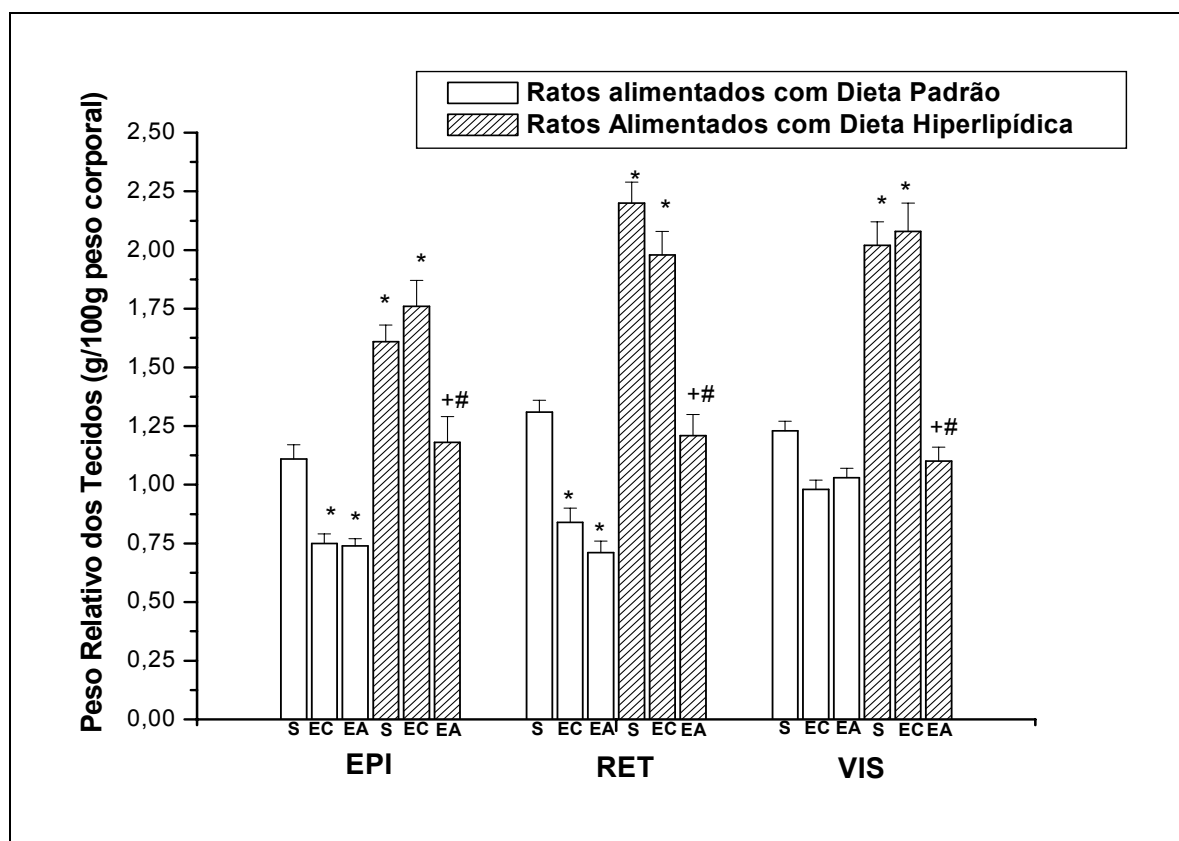
Com relação ao efeito específico da dieta nos tecidos adiposos brancos retroperitoneal (RET) e epididimal (EPI), visceral (VIS) e tecido adiposo marrom (TAM), verificam-se na Figura 2 e na Tabela 2 que o grupo sedentário alimentado com dieta hiperlipídica, apresentou valores significativamente maiores no peso relativo desses tecidos quando comparado ao grupo alimentado com dieta padrão. O peso relativo do músculo gastrocnêmio (GAST) foi menor nesses animais (SH).

Os dois protocolos de exercício promoveram redução significativa no peso relativo dos tecidos adiposos brancos EPI e RET em ratos alimentados com dieta padrão comparados ao grupo sedentário (SP). Por outro lado, observa-se na Figura 2, que quando associado à dieta hiperlipídica o exercício acumulado promoveu além da redução significativa dos tecidos adiposos brancos EPI e RET, redução no tecido adiposo visceral, quando comparado ao grupo sedentário e ao exercitado contínuo.

Pode ser observado na Tabela 2 que todos os grupos exercitados apresentam aumento no peso relativo do tecido adiposo marrom (TAM) e que nenhuma diferença foi observada nesse parâmetro em relação ao fígado (FIG).

Ao compararmos os resultados obtidos com o grupo sedentário alimentado com dieta padrão (SP), verificou-se que o grupo submetido ao exercício acumulado e alimentado com dieta hiperlipídica (EAH) normalizou o peso relativo dos tecidos adiposos epididimal, retroperitoneal e visceral. Além disso, peso relativo

do tecido adiposo visceral neste grupo (EAH) reduziu, chegando a valores semelhantes aos dos grupos exercitados alimentados com dieta padrão (ECP, EAP).



Valores expressos em média \pm erro padrão da média (n=8). Símbolos indicam diferenças significativas $p < 0.01$ (Tukey-Kramer Test). * Versus SP; + versus SH; § versus ECP; # versus ECH; onde SP, ratos sedentários alimentados com dieta padrão; SH, ratos sedentários alimentados com dieta hiperlipídica; ECP, ratos submetidos ao exercício contínuo e alimentados com dieta padrão; ECH, ratos submetidos ao exercício contínuo e alimentados com dieta hiperlipídica; EAP, ratos submetidos ao exercício acumulado e alimentados com dieta padrão; EAH, ratos submetidos ao exercício acumulado e alimentados com dieta hiperlipídica. EPI Tecido Adiposo Branco Epididimal; RET, Tecido Adiposo Branco Retroperitoneal; VIS, Tecido Adiposo Visceral.

Figura 2. Efeito dos Exercícios Contínuo e Acumulado e da Dieta Hiperlipídica sobre o peso relativo dos tecidos adiposos brancos.

Tabela 2. Efeito dos Exercícios Contínuo e Acumulado e da Dieta Hiperlipídica sobre o peso relativo dos tecidos.

Grupos	Peso Relativo (g/100g peso corporal)		
	TAM	GAST	FIG
SP	0.07±0.004	0.46±0.01	3.92±0.07
ECP	0.19±0.001*	0.41±0.01	3.67±0.06
EAP	0.22±0.01*	0.43±0.01	3.66±0.06
SH	0.11±0.005*	0.40±0.01*	3.59±0.07
ECH	0.22±0.04*+	0.40±0.01*	3.51±0.09
EAH	0.33±0.01*+§	0.43±0.01	3.38±0.09

Valores expressos em média ± erro padrão da média (n=8). Símbolos indicam diferenças significativas $p < 0.01$ (Tukey-Kramer Test). * Versus SP; + versus SH; § versus ECP; # versus ECH; onde SP, ratos sedentários alimentados com dieta padrão; SH, ratos sedentários alimentados com dieta hiperlipídica; ECP, ratos submetidos ao exercício contínuo e alimentados com dieta padrão; ECH, ratos submetidos ao exercício contínuo e alimentados com dieta hiperlipídica; EAP, ratos submetidos ao exercício acumulado e alimentados com dieta padrão; EAH, ratos submetidos ao exercício acumulado e alimentados com dieta hiperlipídica. TAM, Tecido Adiposo Marrom; GAST, músculo gastrocnêmio; FIG, Fígado.

5. 5 Conteúdo de Lipídios nos Tecidos (%)

Na Figura 3 observa-se que a dieta hiperlipídica promoveu aumento significativo da gordura no fígado dos animais sedentários (SH 4,90±0,6; SP 1,41±0,12). Os protocolos de exercício associados à dieta hiperlipídica apresentaram redução significativa no percentual de gordura no fígado quando comparados ao grupo sedentário (SH 4,90±0,6; ECH 2,43±0,35; EAH 2,04±0,42).

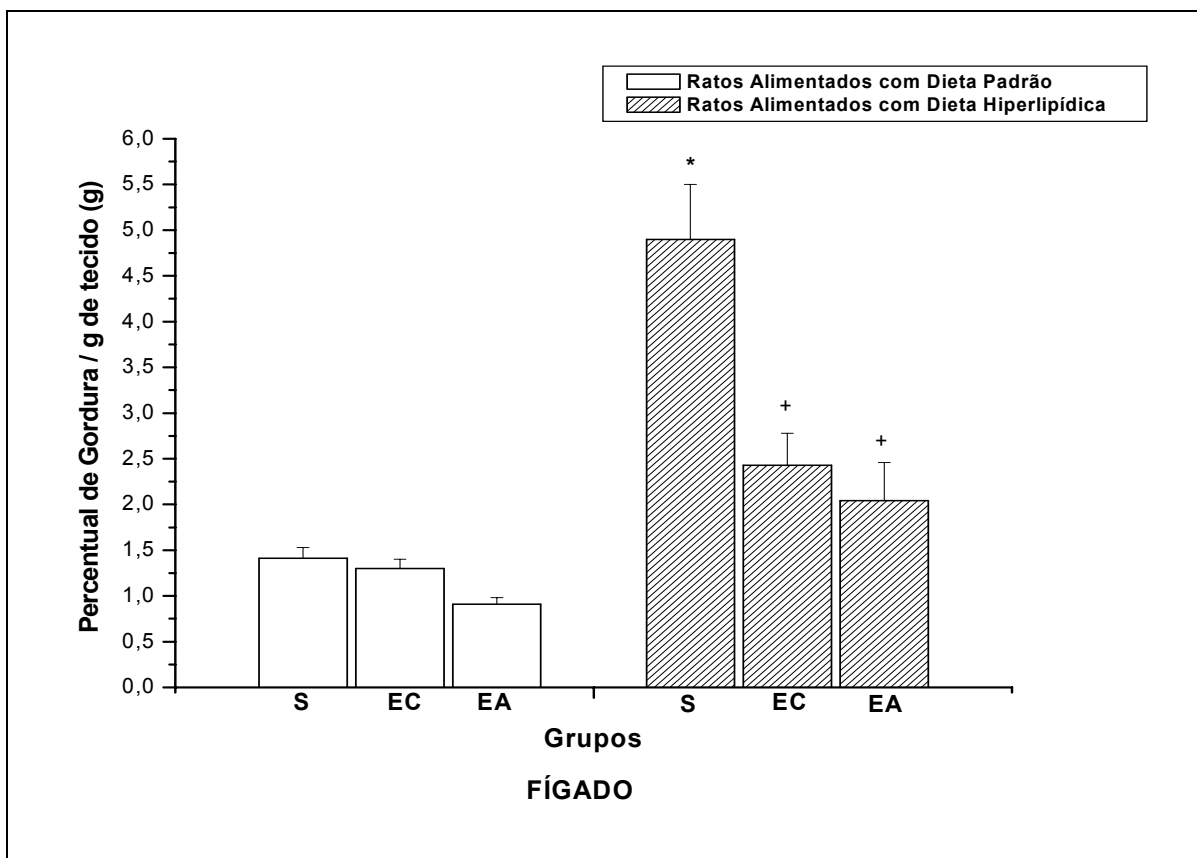
Nos outros tecidos, nenhuma diferença foi observada em relação aos grupos sedentários (Tabela 3)

Nos animais alimentados com dieta padrão o exercício acumulado promoveu redução significativa no conteúdo percentual de lipídios no RET (SP $87,99 \pm 1,53$; EAP $76,10 \pm 2,51$) e no VIS (SP $50,46 \pm 2,37$; EAP $32,23 \pm 0,90$), conforme pode ser observado na Tabela 3.

Tabela 3. Efeito dos Exercícios Contínuo e Acumulado e da Dieta Hiperlipídica sobre o percentual de gordura dos tecidos.

Grupos	Conteúdo de Lipídios (%/g de tecido)				
	EPI	RET	VIS	TAM	GAST
SP	80.54 ± 3.75	87.99 ± 1.53	50.46 ± 2.37	48.30 ± 1.86	0.59 ± 0.04
ECP	81.77 ± 1.93	86.06 ± 2.66	49.45 ± 3.44	44.85 ± 3.49	0.53 ± 0.04
EAP	73.30 ± 3.24	$76.10 \pm 2.51^*$	$32.23 \pm 0.90^*$	38.45 ± 2.84	0.50 ± 0.07
SH	83.13 ± 2.11	84.97 ± 0.91	62.83 ± 4.98	49.80 ± 2.82	0.58 ± 0.05
ECH	79.23 ± 3.03	82.58 ± 1.78	63.14 ± 5.13	52.02 ± 3.75	0.42 ± 0.06
EAH	79.48 ± 3.30	79.16 ± 3.43	50.49 ± 3.81	51.13 ± 3.22	0.64 ± 0.11

Valores expressos em média \pm erro padrão da média (n=8). Símbolos indicam diferenças significativas $p < 0.01$ (Tukey-Kramer Test). * Versus SP; + versus SH; § versus ECP; # versus ECH; onde SP, ratos sedentários alimentados com dieta padrão; SH, ratos sedentários alimentados com dieta hiperlipídica; ECP, ratos submetidos ao exercício contínuo e alimentados com dieta padrão; ECH, ratos submetidos ao exercício contínuo e alimentados com dieta hiperlipídica; EAP, ratos submetidos ao exercício acumulado e alimentados com dieta padrão; EAH, ratos submetidos ao exercício acumulado e alimentados com dieta hiperlipídica.



Valores expressos em média \pm erro padrão da média (n=8). Símbolos indicam diferenças significativas $p < 0.01$ (Tukey-Kramer Test). * Versus SP; + versus SH; § versus ECP; # versus ECH; onde SP, ratos sedentários alimentados com dieta padrão; SH, ratos sedentários alimentados com dieta hiperlipídica; ECP, ratos submetidos ao exercício contínuo e alimentados com dieta padrão; ECH, ratos submetidos ao exercício contínuo e alimentados com dieta hiperlipídica; EAP, ratos submetidos ao exercício acumulado e alimentados com dieta padrão; EAH, ratos submetidos ao exercício acumulado e alimentados com dieta hiperlipídica.

Figura 3. Efeito dos Exercícios Contínuo e Acumulado e da Dieta Hiperlipídica sobre o percentual de Gordura no Fígado.

5. 6 Lipogênese

A dieta hiperlipídica promoveu aumento significativo na lipogênese no EPI dos animais sedentários quando comparado ao grupo alimentado com dieta padrão. Não foi observada diferença significativa na taxa de lipogênese no RET, VIS, BAT, GAST e FIG dos animais sedentários (Tabela 4).

Nos animais exercitados alimentados com dieta padrão (ECP e EAP) a taxa de lipogênese foi maior no EPI, RET, GAST e FIG quando comparados ao grupo sedentário (SC). O exercício acumulado também promoveu aumento na taxa de lipogênese no TAM e no VIS (Tabela 4). Além disso, quando comparamos os protocolos de exercício (contínuo e acumulado), observa-se que o aumento na taxa de lipogênese do grupo exercitado acumulado foi significativamente maior comparado ao grupo exercitado contínuo em todos os tecidos analisados.

Quando alimentados com a dieta hiperlipídica observamos aumento no RET, GAST e FIG e redução no TAM da taxa de lipogênese dos animais exercitados contínuos (ECH) quando comparados ao grupo sedentário (SH).

Tabela 4. Efeito dos Exercícios Contínuo e Acumulado e da Dieta Hiperlipídica sobre a síntese lipídica dos tecidos.

Síntese Lipídica (Lipogênese <i>In vivo</i>)						
(Micro moles de $^3\text{H}_2\text{O}$ incorporada nos lipídios /g de tecido/hora)						
Grupos	EPI	RET	VIS	TAM	GAST	FIG
SP	0.99±0.06	1.13±0.10	2.39±0.55	7.43±0.65	0.67±0.05	4.10±0.37
ECP	3.39±0.26*	3.49±0.23*	3.03±0.14	8.07±0.55	4.25±0.25*	6.85±0.29*
EAP	5.28±0.47*§	6.26±0.55*§	11.75±0.86*§	17.70±1.62 *§	23.44±0.83*§	17.00±0.58*§
SH	2.08±0.24*	1.08±0.09	1.10±0.13	7.17±1.37	0.70±0.06	3.12±0.34
ECH	2.11±0.09	2.18±0.07+	2.18±0.12+	2.51±0.17+	4.36±0.29+	3.46±0.14
EAH	0.56±0.03+#	0.52±0.04#	0.68±0.04+#	1.85±0.24 +#	0.36±0.02#	0.60±0.04+#

Valores expressos em média ± erro padrão da média (n=8). Símbolos indicam diferenças significativas $p < 0.01$ (Tukey-Kramer Test). * Versus SP; + versus SH; § versus ECP; # versus ECH; onde SP, ratos sedentários alimentados com dieta padrão; SH, ratos sedentários alimentados com dieta hiperlipídica; ECP, ratos submetidos ao exercício contínuo e alimentados com dieta padrão; ECH, ratos submetidos ao exercício contínuo e alimentados com dieta hiperlipídica; EAP, ratos submetidos ao exercício acumulado e alimentados com dieta padrão; EAH, ratos submetidos ao exercício acumulado e alimentados com dieta hiperlipídica.

5. 7. ¹⁴C-lipídios Absorvidos e Acumulados nos Tecidos

Os animais sedentários alimentados com dieta hiperlipídica (SH) apresentaram redução na absorção e no acúmulo de lipídios marcados nos tecidos adiposos epididimal (EPI) e retroperitoneal (RET) quando comparados ao grupo sedentário alimentado com dieta padrão (SP), como pode ser observado na Tabela 5. Nos outros tecidos nenhuma diferença significativa foi observada.

Ainda na Tabela 5 observa-se que os dois protocolos de exercício associados à dieta padrão promoveram aumento na absorção e no acúmulo de lipídios marcados nos tecidos VIS, TAM, GAST e FIG comparados ao grupo sedentário (SP). Este efeito foi maior no exercício acumulado comparado ao contínuo para os tecidos GAST e FIG. O exercício contínuo (ECP) promoveu redução na absorção e acúmulo de gordura no tecido adiposo retroperitoneal (RET).

Na vigência da dieta hiperlipídica observa-se que o exercício contínuo promoveu aumento significativo em todos os tecidos exceto no TAM, que apresentou aumento percentual de 123% em relação ao sedentário (Tabela 5). Em relação ao exercício acumulado, observa-se a manutenção dessa variável em relação ao grupo sedentário (SH) para os tecidos EPI, GAST e FIG; e o aumento na absorção e no acúmulo de lipídios marcados no, RET, VIS, e TAM.

Tabela 5. Efeito dos Exercícios Contínuo e Acumulado e da Dieta Hiperlipídica sobre a captação de lipídeos da Dieta.

Grupos	% ¹⁴ C – lipídeos acumulados/g de tecido por hora.					
	EPI	RET	VIS	TAM	GAST	FIG
SP	2.62±0.28	3.08±0.23	1.14±0.12	1.25±0.12	0.25±0.01	0.66±0.16
ECP	1.96±0.28	1.78±0.15*	2.92±0.25*	8.43±1.28*	4.40±0.27*	2.79±0.17*
EAP	2.36±0.17	2.47±0.14	3.95±0.16*	9.31±1.28 *	8.17±0.52*§	4.78±0.24*§
SH	0.94±0.09*	1.01±0.11*	1.17±0.10	2.32±0.67	0.25±0.01	0.54±0.04
ECH	2.30±0.16+	2.20±0.14+	2.65±0.13+	3.50±0.48	4.70±0.21+	3.36±0.15+
EAH	0.84±0.13#	2.00±0.24+	2.48±0.29+	6.03±0.73+	0.66±0.03#	0.72±0.07#

Valores expressos em média ± erro padrão da média (n=8). Símbolos indicam diferenças significativas p<0.01 (Tukey-Kramer Test). * Versus SP; + versus SH; § versus ECP; # versus ECH; onde SP, ratos sedentários alimentados com dieta padrão; SH, ratos sedentários alimentados com dieta hiperlipídica; ECP, ratos submetidos ao exercício contínuo e alimentados com dieta padrão; ECH, ratos submetidos ao exercício contínuo e alimentados com dieta hiperlipídica; EAP, ratos submetidos ao exercício acumulado e alimentados com dieta padrão; EAH, ratos submetidos ao exercício acumulado e alimentados com dieta hiperlipídica.

5. 8. Perfil Lipídico e Concentração Plasmática de Leptina

Os animais sedentários alimentados com dieta hiperlipídica apresentaram aumento na concentração sérica de colesterol comparados aos alimentados com dieta padrão (Tabela 6). A concentração sérica de Triglicérides (TG) e HDL-colesterol (HDL-c) desses animais apresentaram um aumento percentual de 22,4% e 20,6% respectivamente (Tabela 6)

O exercício associado à dieta padrão promoveu redução na concentração de triglicérides e aumento na concentração de HDL-colesterol e Colesterol total (Tabela 6). Quando associado à dieta hiperlipídica tem-se que o exercício contínuo promoveu redução de 14,36% no TG e 2,66% no Colesterol total,

assim como se observou aumento de 9,18% no HDL-c. Além disso, exercício acumulado foi efetivo em reduzir estatisticamente o Colesterol total e o HDL-c.

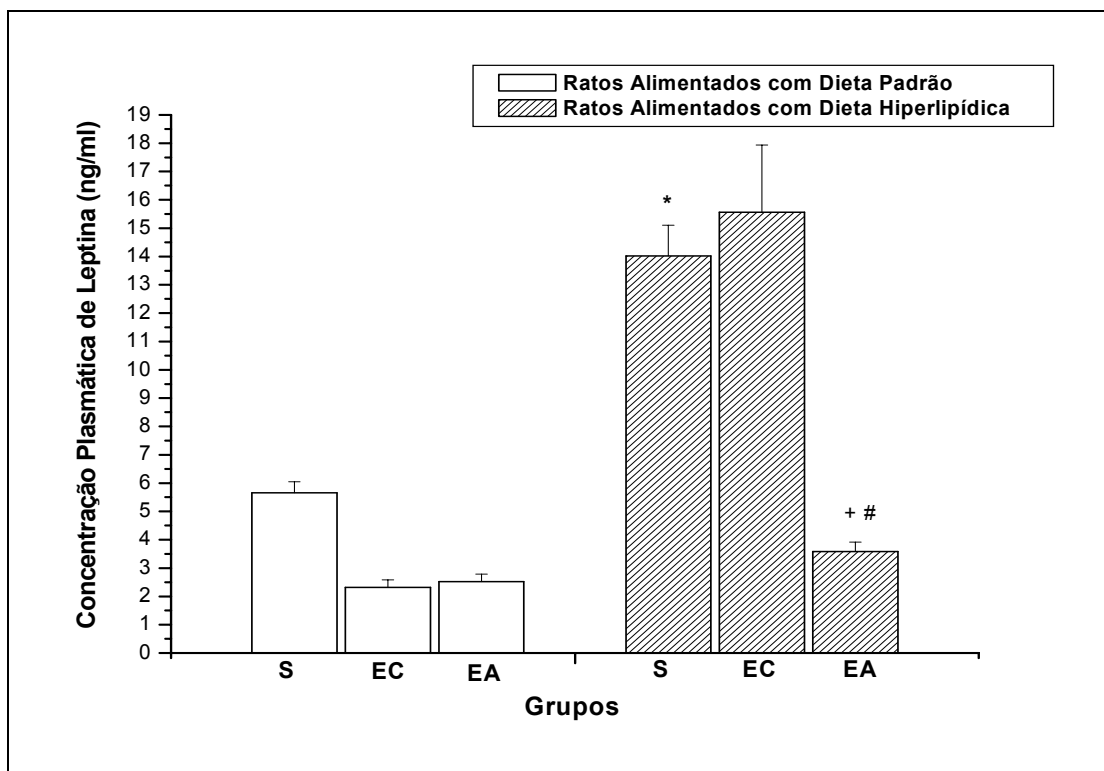
Tabela 6. Efeito dos Exercícios Contínuo e Acumulado e da Dieta Hiperlipídica sobre o perfil lipídico.

Grupos	TG (mg/dl)	COL (mg/dl)	HDL-Col (mg/dl)
SP	141.20±2.87	43.44±2.5	26.20±1.56
ECP	75.57±2.88*	67.14±2.7*	34.86±1.78*
EAP	76.37±2.36*	67.14±3.15*	35.37±1.44*
SH	172.83±16.35	72.20±3.3*	31.60±1.16
ECH	148.00±19.92	70.28±1.7	34.50±0.9
EAH	170.12±15.27	34.03±2.38*+#	18.77±1.41+#

Valores expressos em média ± erro padrão da média (n=8). Símbolos indicam diferenças significativas $p < 0.01$ (Tukey-Kramer Test). * Versus SP; + versus SH; § versus ECP; # versus ECH; onde SP, ratos sedentários alimentados com dieta padrão; SH, ratos sedentários alimentados com dieta hiperlipídica; ECP, ratos submetidos ao exercício contínuo e alimentados com dieta padrão; ECH, ratos submetidos ao exercício contínuo e alimentados com dieta hiperlipídica; EAP, ratos submetidos ao exercício acumulado e alimentados com dieta padrão; EAH, ratos submetidos ao exercício acumulado e alimentados com dieta hiperlipídica.

A concentração plasmática de leptina foi significativamente maior nos animais sedentários alimentados com dieta hiperlipídica em comparação ao grupo alimentado com dieta padrão (SH 14,02 ±1,09; SP 5,65±0,40).

Quando associado à dieta hiperlipídica verificou-se que o exercício contínuo não foi capaz de alterar a concentração plasmática de leptina, mantendo os valores semelhantes ao grupo sedentário (SH). Por outro lado, exercício acumulado foi efetivo em normalizar a hiperleptinemia decorrente da dieta hiperlipídica (Figura 4).



Valores expressos em média \pm erro padrão da média (n=8). Símbolos indicam diferenças significativas $p < 0.01$ (Tukey-Kramer Test). * Versus SP; + versus SH; § versus ECP; # versus ECH; onde SP, ratos sedentários alimentados com dieta padrão; SH, ratos sedentários alimentados com dieta hiperlipídica; ECP, ratos submetidos ao exercício contínuo e alimentados com dieta padrão; ECH, ratos submetidos ao exercício contínuo e alimentados com dieta hiperlipídica; EAP, ratos submetidos ao exercício acumulado e alimentados com dieta padrão; EAH, ratos submetidos ao exercício acumulado e alimentados com dieta hiperlipídica.

Figura 4. Efeito dos Exercícios Contínuo e Acumulado e da Dieta Hiperlipídica sobre a concentração plasmática de Leptina.

6. DISCUSSÃO

Sabe-se que o exercício contínuo é um modelo clássico para o controle do ganho de massa corporal e conseqüentemente prevenção da obesidade e doenças correlacionadas. Por outro lado, a partir de evidências recentes, tem sido sugerido que o exercício realizado em vários momentos do dia (no presente estudo denominado de exercício acumulado) pode também promover adaptações no metabolismo lipídico, facilitando então o controle de massa corporal (MATSUDO et al., 2005).

Partindo desses pressupostos, foram analisados no presente estudo os efeitos de dois protocolos de exercício: contínuo e acumulado, ambos na vigência de dieta balanceada (padrão), com o objetivo de verificar qual o modelo experimental de exercício poderia promover melhor controle da adiposidade, leptinemia e esteatose hepática não-alcoólica (NAFLD). Na segunda fase do mesmo, avaliamos os mesmos protocolos de exercício na vigência de dieta hiperlipídica, visando simular um padrão alimentar obesogênico, amplamente utilizado pela sociedade moderna.

Assim, desenvolveremos a discussão de nossos achados enfatizando: a) efeitos dos exercícios: contínuo e acumulado, na vigência de dieta padrão; e b) efeitos dos exercícios: contínuo e acumulado, na vigência de dieta hiperlipídica.

Recentes investigações têm discutido os efeitos de dietas ricas em gordura e ou ricas em colesterol sobre a adiposidade central e visceral, bem como sua relação com o desenvolvimento de doenças crônicas e obesidade (MANZONI et al., 2005; LOVOIE et al., 2005; POOLABAN et al., 2004; HIDA et al., 2005; TOCK et al., 2006). Por outro lado, o papel do exercício físico no auxílio da redução dos

efeitos adversos do sedentarismo e dietas ricas em gordura tem grande importância. Entretanto, sabe-se que a intensidade, frequência e duração do exercício bem como o tipo de dieta têm promovido diferentes adaptações metabólicas (HOROWITZ, 2003; RUBY & ROBERGS, 1994; EVEN et al., 1998). O que tem se questionado é se todos os modelos de exercício têm os mesmos efeitos benéficos sobre a adiposidade central e visceral, conteúdo de gordura no fígado, perfil lipídico e massa corporal.

Diversos estudos têm reportado que o exercício moderado promove redução na massa corporal, adiposidade, dislipidemias e esteatose hepática em ratos (DUARTE et al., 2003; ESTADELLA et al., 2004; BURNEIKO et al., 2006, SCHRAUWEN & WESTERTERP 2000; BERNARDES et al, 2004; GAUTHIER et al., 2003). Por outro lado, o conceito dos benefícios para saúde através de acumulação de atividade física é relativamente recente, sendo a recomendação adotada por diferentes organizações e/ou programas internacionais e nacionais, tais como o Programa Agita Mundo e Agita São Paulo, é a de que: “Todo indivíduo adulto deve acumular pelo menos 30 minutos de atividade física, em pelo menos 5 dias da semana, de intensidade moderada, que podem ser realizadas de maneira contínua ou acumulada” (MURPHY & HARDMAN, 1998).

Neste sentido, observou-se previamente que pessoas que praticavam atividades físicas em três sessões de 10 minutos de duração com intervalos determinados de 4 horas, apresentavam respostas cardiovasculares semelhantes a pessoas que se exercitavam em sessões contínuas de 30 minutos (DeBUSK et al., 1990). Posteriormente, se verificou que mulheres que praticaram exercício de forma contínua por 30 minutos, comparadas àquelas que se exercitaram por 30 minutos, divididos em três sessões intervaladas, apresentaram o mesmo gasto energético

(FULTON et al., 1997). Esses estudos confirmaram e ou referendaram os achados de Murphy & Hardman (1998).

Matsudo et al., (2002) e Matsudo et al., (2003) e Matsudo et al., (2005) concluíram que a atividade física, tanto a realizada de forma acumulada quanto contínua podem resultar em efeitos benéficos para a saúde. No entanto, ainda não foram observados os efeitos específicos desses dois tipos de exercício nas condições experimentais propostas neste estudo.

Tem sido reportado que durante 30 minutos de exercício de intensidade baixa a moderada, o percentual de re-esterificação dos lipídios reduz de 70% (repouso) para aproximadamente 25%. No entanto, essa diminuição na taxa de re-esterificação em resposta aguda ao exercício, apresenta-se associada ao aumento de 300% na liberação dos ácidos graxos livres (AGL) advindos da hidrólise dos triglicerídeos (TG) pelo tecido adiposo. Desse modo, ocorre aumento concomitante, porém mais acentuado (600%) na disponibilidade desses substratos para serem utilizados pelo músculo durante a sessão de exercício (ACHTEN et al., 2004).

É importante ressaltar que no presente estudo, essa adaptação ocorreu três vezes por dia, durante os períodos de recuperação, em resposta ao Exercício Acumulado, sugerindo um maior efeito sobre a adiposidade.

De fato, ao observarmos os resultados da presente investigação, verifica-se que na vigência da dieta hiperlipídica apenas o exercício acumulado reduziu estatisticamente tanto a adiposidade central quanto a visceral. Entretanto, na vigência da dieta padrão os dois tipos de exercícios foram efetivos no controle da adiposidade dos animais. Assim, baseado nestes resultados, pode-se supor que pessoas que consomem alto teor de gorduras teriam benefícios melhores no

controle desta variável se praticassem atividade física em sessões mais curtas, porém várias vezes ao dia, reforçando evidências prévias que defendem esse modelo de exercício para o controle da epidemia global da obesidade, através de mudança no estilo de vida (MATSUDO et al., 2002; MATSUDO et al., 2003; MATSUDO et al., 2005; MURPHY & HARDMAN, 1998).

Em estudo recente realizado pelo nosso grupo de pesquisa, comparando-se o exercício contínuo (5 sessões por semana) àquele realizado apenas nos finais de semana (2 sessões por semana), observou-se que os dois tipos de exercícios foram efetivos na redução do ganho de massa corporal, do colesterol total, dos triglicerídeos e da área dos adipócitos dos animais alimentados com dieta hipercolesterolêmica (GUERRA et al., 2007). No entanto os efeitos sobre o controle da adiposidade central e visceral foram mais acentuados, especificamente em resposta ao exercício contínuo. Estes resultados reforçam a importância de se investigar diferentes modelos experimentais de exercício, visando adequar a prescrição individualizada de treinamento físico.

O consumo alimentar e o ganho de massa corporal em animais sedentários e exercitados alimentados com dieta hiperlipídicas tem apresentado resultados controversos na literatura (ESTADELLA et al., 2004; SCHRAUWEN & WESTERTERP, 2000; BERNARDES et al., 2004; DUARTE et al., 2006). No presente estudo, os animais que foram alimentados com dieta hiperlipídica apresentaram diminuição no consumo alimentar associado ao aumento na ingestão calórica. Nesse sentido, dietas ricas em gordura reduzem a eficiência alimentar (BURNEIKO et al., 2006) e aumentam a eficiência metabólica. Esse fato poderia explicar porque a dieta hiperlipídica não teve efeito sobre o ganho de massa corporal dos animais sedentários (SH) e exercitado contínuo (ECH).

Alguns estudos relataram aumento na massa corporal dos animais alimentados com dieta hiperlipídica em relação ao controle, como os trabalhos de Duarte et al. (2001), Ferreira (2002), Estadella et al. (2004) e Duarte et al. (2006) que utilizaram à mesma dieta do presente estudo.

Outros estudos, utilizando a dieta de cafeteria padronizada por Sclafani & Springer (1976), ressaltam a variabilidade de resultados deste parâmetro. Algumas pesquisas não encontraram aumento da massa corporal (KUSUNOKI *et al.*, 1993; KIM *et al.*, 1994; PODOLIN *et al.*, 1999; KIM *et al.*, 2000), enquanto outras verificaram elevação desta variável (BARBER *et al.*, 1985; MARGARETO *et al.*, 2001; GAÍVA *et al.*, 2001). No presente estudo, a dieta hiperlipídica não alterou significativamente a massa corporal nos animais sedentários.

Por outro lado, verificou-se que dietas com alto teor de gordura estão associadas a hiperfagia, no entanto, ainda não está claro se esse efeito é resultante da obesidade ou se é consequência da alta ingestão lipídica (WESTE, 1998). Isto ainda é bem contraditório na literatura, pois, em vários estudos realizados em roedores que foram alimentados com dieta hiperlipídica, não foi observado hiperfagia, entretanto, os animais desenvolveram obesidade (DUARTE et al., 2008; DUARTE et al., 2006).

Dentre os possíveis mecanismos potenciais que podem explicar estes resultados destacam-se a densidade calórica, a saciedade e a palatabilidade dos lipídios. Bellaver et al., (2001) demonstraram diminuição progressiva no consumo de alimentos à medida que se aumentou a densidade calórica da dieta. Nossos resultados estão de acordo com esses achados, pois na vigência da dieta hiperlipídica, houve redução no consumo alimentar (g) concomitante ao aumento da ingestão calórica, nos animais sedentários.

É importante ressaltar que no presente estudo, o exercício acumulado na vigência das duas dietas, apesar da similaridade na ingestão calórica, apresentou redução significativa no ganho de massa corporal em relação aos respectivos grupos controle. Entretanto, este efeito foi mais acentuado nos ratos alimentados com dieta hiperlipídica. Assim, estes dados reforçam a hipótese de que o exercício acumulado foi mais efetivo em aumentar o gasto energético, ampliando seus efeitos sobre o controle do balanço energético.

De fato, ao analisarmos a leptinemia dos animais observamos que a dieta hiperlipídica quase triplicou a concentração circulante desse hormônio, reforçando evidências prévias de que dietas com alto teor de gordura podem desenvolver resistência à ação desse hormônio (SCARPACE et al., 2005). Porém, ao observamos os efeitos dos dois tipos de exercício verificamos que o exercício contínuo não foi efetivo na redução da hiperleptinemia causada pela dieta hiperlipídica. Por outro lado, o exercício acumulado promoveu a normalização desses valores.

De acordo com a literatura atual existem três mecanismos prováveis que explicariam a resistência leptínica: a) defeitos pré-receptor; b) defeitos no receptor; c) e defeitos pós-receptor (VELLOSO, 2006). No entanto, outros estudos evidenciaram que na maioria dos animais e humanos obesos a hiperleptinemia está presente e apenas uma pequena proporção de pessoas obesas possui deficiência relativa ou absoluta de leptina. Além disso, efeitos modestos foram observados sobre a massa corporal após a administração subcutânea de leptina em humanos obesos (CONSIDINE et al. 1996; FOGTELOO et al., 2003; HEYMSFIELD et al., 1999; MAFFEI et al., 1995). Especificamente em obesidade experimental induzida por dieta, a administração periférica de leptina não promoveu redução na ingestão

alimentar dos animais apesar da redução na STAT-3 hipotalâmica (EL HASCHIMI et al., 2000), reforçando a hipótese de que este modelo experimental pode desenvolver resistência à ação da leptina em ratos.

A via de sinalização da leptina depende de sua ligação a um receptor monomérico transmembrana da família dos receptores de citocinas da classe I. Foram descritas seis diferentes formas protéicas deste receptor, denominadas ObRa-f, sendo codificados por um único gene presente no locus *Ip31*, resultantes de diferentes *splicings*. A expressão da forma ObRb é predominante nos neurônios do núcleo arqueado, sendo a responsável pela transdução do sinal da leptina nesta região do hipotálamo. Além disso, este receptor não possui atividade catalítica intrínseca, sendo ligado a uma proteína citosólica com atividade tirosina quinase denominada de Janus quinase-2 (JAK-2). Desta forma, ao se ligar ao receptor a leptina promove a fosforilação da JAK-2, que desencadeia uma cascata de reações, formando-se três sítios ativos que propagarão o sinal da leptina. Ao ser ativado, o sítio IRS2 (proteínas da família dos substratos do receptor de insulina) ativa a enzima fosfatidilinositol 3-quinase (PI3K), regulando a liberação de neurotransmissores associados ao controle da fome e termogênese nos terminais sinápticos. O outro sítio atua como intermediário nas vias e na sinalização da MAP quinase, ativando as ERKs, que possuem papel pouco conhecido na expressão gênica neuronal controlada pela leptina. O terceiro e último sítio, recruta as moléculas da família de transdutores-de-sinal-e-ativadores-de-transcrição (STATs, predominantemente STAT-3) que tem ação predominante na condução do sinal gerado pela leptina ao núcleo que promoverá a transcrição de genes de neurotransmissores responsivos ao sinal hormonal (VELOSO et al., 2006; TARTAGLIA, 1997; CHUA et al.,1996; BJORBAEK et al.,1997; ZABEAU et

al.,2003; MUNZBERG & MYERS JR, 2005; KELLERER et al.,1997; XU et al., 2005; BJORBAEK et al., 2001)

Quanto ao tipo de receptores, a sinalização ocorre a partir de três tipos de receptores: longo, curto e secretado (GE et al., 2002; TARTAGLIA, 1997). No transporte da leptina na barreira hemato-encefálica o receptor envolvido é o tipo curto, enquanto que o receptor secretado irá se ligar a leptina circulante modulando assim seus efeitos biológicos (BANKS et al., 1996; EL HASCHIMI et al., 2000; GE et al., 2002). O receptor Ob-Rb, que é do tipo longo, é responsável pelo processamento do domínio intracelular longo que se liga aos fatores de transcrição JAK-Kinase e STA3 o que resultará em um sinal de transdução, efetivando os efeitos da leptina na ingestão alimentar (LEE et al., 1996; VAISSE et al., 1996). Quando ativada a via de sinalização JAK-STAT é induzida à expressão dos supressores de sinalização de citocinas (SOCS-3), integrante da família de citocinas que inibem a sinalização da leptina. Sua expressão é estimulada pela leptina, no núcleo hipotalâmico, aumentando a expressão do receptor Ob-Rb. Além disso, o aumento na expressão de SOCS-3 inibe a ação da leptina sendo postulado que a resistência leptínica na obesidade pode ser consequência do aumento ou da expressão excessiva da SOCS-3. Neste sentido, foi observado em camundongos que o bloqueio da ação da SOCS-3 promoveu diminuição no desenvolvimento da obesidade induzida pela dieta, e conseqüentemente diminuindo a resistência à ação da leptina (MORI et al., 2004), sendo a supressão da SOCS-3 um provável tratamento para obesos com resistência leptínica (STANLEY et al., 2005).

Em resposta à infusão central de leptina temos a ação bifásica na expressão do NPY e como esperado ocorre inicialmente uma supressão no RNAm do NPY. Mantendo-se a infusão de leptina, ocorrerá o retorno da expressão gênica

do NPY a valores semelhantes aos observados nos animais controle. Como possível consequência da obesidade tem-se a resistência à ação da leptina, todavia a redução na sensibilidade desse hormônio pode contribuir para a etiologia dessa doença, o que vem confirmar os achados da presente investigação. A alta ingestão de dieta rica em gordura *per se*, antes mesmo de modificar a composição corporal, pode induzir resistência à ação da leptina, e por sua vez a ausência de sensibilidade ao efeito anorexígeno provocado pela administração central da leptina pode predizer o futuro desenvolvimento da obesidade em animais (SAHU, 2002; LEVIN & DUNN-MEYNELL, 2002; LIN et al., 2001).

Da mesma forma, verificou-se recentemente que a insulina também apresenta o fenômeno de resistência hipotalâmica, anteriormente observado em tecidos periféricos. A redução na atividade anorexigênica e pro-termogênica exercida por esse hormônio seria uma das possíveis consequências observadas. Assim, os efeitos estimulatórios da insulina sobre a ação hipotalâmica da leptina sugerem um comprometimento da função reguladora do balanço energético relacionado a leptina (MORTON, 2007). Neste sentido, torna-se importante à busca de novas evidências explicativas do controle hipotalâmico da obesidade.

A grelina também pode regular os estoques de energia, estando a sua concentração circulante inversamente correlacionada com a adiposidade, o que pode ser observado em pessoas anoréxicas que apresentam alta concentração de grelina, que volta aos valores de normalidade após o ganho de massa corporal. Por outro lado, a concentração de grelina em obesos apresenta-se reduzida (HANSEN et al., 2002; CUMMINGS et al., 2002).

Em estudo prévio realizado com adolescentes obesos, resultados semelhantes foram observados, quanto à redução circulante de grelina e

hiperleptinemia, reforçando as hipóteses relativas à resistência à ação da leptina previamente discutidas, uma vez que apesar da grelina e da leptina terem ações antagônicas, esses hormônios competem pelos mesmos sítios de ação neural (DÂMASO et al., 2006; PRADO, 2007). Outros estudos demonstraram que pessoas obesas não conseguem interromper adequadamente a refeição devido a erros na regulação pós prandial da grelina. Deste modo, continua controversa a relação da grelina com os polimorfismos da obesidade (ENGLISH et al., 2002; HINNEY et al., 2002; WANG et al., 2004).

Assim, passamos a investigar quais os mecanismos fisiológicos que contribuíram para que somente o exercício acumulado apresentasse normalização da hiperleptinemia mesmo na vigência de dieta hiperlipídica.

No presente estudo, observamos que o exercício acumulado associado à dieta hiperlipídica normalizou a porcentagem de gordura visceral, comparando-se os valores observados em relação ao grupo controle sedentário. Além disso, houve ainda redução estatística no peso relativo dos tecidos adiposos brancos, assim como diminuição na taxa de síntese lipídica desses tecidos, o mesmo não tendo sido observado em resposta ao exercício contínuo. Desse modo, todas essas alterações podem ter contribuído para a normalização da leptinemia em resposta ao exercício acumulado, uma vez tendo sido demonstrado que a concentração circulante de leptina está diretamente relacionada à massa adiposa (DÂMASO et al., 2008; CARNIER et al., 2008; DÂMASO et al., 2006) fenômeno este observado no presente estudo, que provavelmente foi ainda modulado pela redução na taxa de síntese lipídica de todos os tecidos analisados.

Por outro lado, os dois tipos de exercício associados à dieta padrão aumentaram significativamente a taxa de síntese lipídica, no entanto reduziram a

massa adiposa dos animais. Estes resultados sugerem que ocorrem mecanismos compensatórios para sustentar a demanda energética imposta pelo exercício, especificamente relacionadas à ingestão de dieta balanceada, entretanto não resultando em balanço energético positivo dos animais.

As respostas metabólicas decorrentes de diferentes tipos de exercícios têm sido amplamente discutidas e apresentam-se controversas. Alguns estudos evidenciaram que o exercício físico aumenta a ingestão alimentar; outros assumem que ocorre redução na ingestão alimentar; e outros não encontraram nenhuma alteração. De acordo com uma recente revisão da literatura, 19% dos estudos resultaram em aumento na ingestão alimentar decorrente do exercício de alta intensidade. No entanto, 65% dos estudos, a partir de exercícios realizados em intensidade leve a moderada não aumentaram a ingestão alimentar (POMERLEAU et al., 2004), fato este observado no presente estudo.

Por outro lado, um estudo mais recente realizado com ratos machos submetidos ao exercício em intensidade de moderada a alta resultou em diminuição na ingestão alimentar. Entretanto, as causas exatas dos efeitos do exercício sobre a supressão do apetite continuam desconhecidas, apesar de evidências sugerirem que este efeito do exercício pode ser mediado pelo hipotálamo. Neste sentido, existem evidências de mecanismos moleculares que indicam haver aumento na ação hipotalâmica da insulina e da leptina após o exercício físico. A infusão intracerebroventricular de insulina e leptina em doses que não alteram a insulinemia ou a leptinemia podem reduzir a ingestão alimentar em ratos exercitados em proporções maiores do que as observadas em animais controle. O exercício tem sido associado a um aumento acentuado na atividade fosforilativa de várias

proteínas envolvidas na sinalização hipotalâmica da leptina e da insulina (FLORES et al, 2006).

Assim, os resultados observados no presente estudo sugerem que a redução na eficiência alimentar e o aumento do gasto energético decorrente dos dois protocolos de exercício, contínuo e acumulado, na vigência de dieta padrão poderiam explicar parcialmente o aumento na taxa de síntese lipídica e a diminuição da massa corporal desses animais. Além disso, os dois tipos de exercício na vigência de dieta padrão apresentaram redução na concentração de triglicerídeos e aumento nas concentrações de colesterol total e HDL-colesterol. A hipotrigliceridemia presente nesses grupos foi acompanhada de um aumento na síntese lipídica no fígado, sendo esses resultados consistentes com a noção de que o exercício melhora a ação da insulina no fígado (MIKINES et al. 1988), e de que a diminuição na disponibilidade de triglicerídeos para esse órgão induz aumento na síntese lipídica pelo tecido (ESTADELLA et al., 2004).

Como tem sido reportado, dietas ricas em gordura resultam em aumento na oxidação lipídica durante o exercício (BERNARDES et al. 2004; HELGE et al., 2001). Sabe-se que tanto o aumento na lipólise e o conseqüente aumento dos ácidos graxos no plasma durante o exercício facilitam essa mudança, e concomitantemente diminui os estoques de glicogênio no músculo e no fígado (BERNARDES et al. 2004, HELGE, 2002). Desta forma, na vigência da dieta hiperlipídica observou-se efeitos distintos em relação aos dois tipos de exercício propostos neste estudo.

Quando submetidos ao exercício contínuo, os animais alimentados com dieta hiperlipídica, apresentaram aumento na eficiência alimentar e efeitos diferenciados na taxa de síntese lipídica dos tecidos, como manutenção nos tecidos

adiposos brancos (EPI e VIS) e tecido hepático; e aumento no músculo (GAST), o que poderiam explicar parcialmente a manutenção da massa corporal. Essas adaptações podem estar relacionadas ao fato de que durante o exercício e após a depleção do glicogênio, os ácidos graxos são a principal fonte energética para o metabolismo muscular; e no período de recuperação, o glicerol é necessário para a reposição do glicogênio (BERNARDES et al. 2004, GAUTHIER et al.,2003). De fato, como pode ser observado no presente estudo que houve manutenção dos triglicerídeos (TG) circulantes.

Quando submetidos ao exercício acumulado, os animais alimentados com dieta hiperlipídica, apresentaram redução na eficiência alimentar, na síntese lipídica e conseqüentemente na massa corporal, o que pode ser parcialmente explicado pela maior disponibilidade dos triglicerídeos (TG) circulantes. Além disso, apresentaram redução estatística na concentração plasmática de colesterol, entretanto, adaptação similar foi observada na concentração de HDL-colesterol. Esse fato pode ser parcialmente explicado pelo aumento na atividade da lipase lipoproteica (LPL), enzima responsável pela liberação dos ácidos graxos das lipoproteínas (SCHRAUWEN & WESTERTERP, 2000; GAUTHIER et al., 2003). Entretanto, no geral esses resultados sugerem a importância do exercício acumulado no controle das dislipidemias em animais.

A captação de lipídios da dieta é uma importante via de regulação do metabolismo lipídico, e conseqüentemente do balanço energético (NASCIMENTO et al. in DÂMASO, 2003). No presente estudo, em animais exercitados e alimentados com dieta padrão observou-se aumento apenas no tecido adiposo visceral. Por outro lado, tendência oposta foi observada nos tecidos adiposos brancos epididimal e retroperitoneal. De acordo com estudos prévios, diferentes expressões gênicas

modulam as adaptações metabólicas que ocorrem nos diferentes depósitos de gordura corporal. Assim, vários estudos, na tentativa de explicar essas diferenças, observaram em seres humanos a partir de biópsia que aproximadamente 20% da expressão gênica no tecido adiposo visceral e no tecido adiposo subcutâneo apresentam-se diferente, sendo que cada gene possui uma magnitude de expressão que modula o metabolismo lipídico. Além disso, cada peptídeo secretado pelo tecido adiposo apresenta meia-vida na circulação (EINSTEIN et al., 2005).

Outros estudos podem exemplificar esse conceito, pois a expressão da leptina depende de vários fatores, mais especificamente da disponibilidade de nutrientes (WANG ET AL., 1999; VULIN & STANLEY, 2002) do tipo de exercício, da massa corporal entre outros fatores (DYCK, 2005). De fato, a captação de lipídeos da dieta em animais alimentados com dieta hiperlipídica promoveu efeitos específicos considerando-se os dois tipos de exercícios analisados no presente estudo. Decorrente do exercício contínuo houve aumento na captação dos lipídeos da dieta em todos os tecidos adiposos brancos estudados, parcialmente explicado pelo aumento da resistência leptínica, fenômeno crítico que leva a uma cascata de eventos, promovendo então aumento na captação de lipídeos da dieta e maior deposição de ácidos graxos, levando a resistência à ação da insulina (DYCK, 2005, TODD et al, 2005).

Neste sentido, a acumulação de triglicerídeos intramuscular tem sido negativamente correlacionada com o total de captação de glicose estimulada pela insulina (KRSSAK et al., 1999; PAN et al., 1997). Embora o acúmulo intramuscular de triglicerídeos possa ser decorrente de alterações nas três vias de regulação do metabolismo lipídico, captação, oxidação e esterificação dos ácidos graxos no músculo, não está claro se essas vias metabólicas são amplamente afetadas por

dietas hiperlipídicas. Assim, foi previamente demonstrado que três semanas de dieta hiperlipídica (65% de energia derivada de gordura) apresenta-se associada ao acúmulo de gordura intramuscular, à diminuição na captação de glicose, e ao aumento da oxidação de ácidos graxos pelo músculo em condições experimentais com infusão de insulina (TODD et al., 2002). Esses resultados sugerem que a resistência à ação da insulina decorrente da dieta hiperlipídica em ratos não é somente devido a mudanças na captação de glicose, mas também no efeito anti-lipolítico da ação deste hormônio. Entretanto, não se têm evidências se esse aumento intramuscular de TG também ocorre em períodos mais prolongados de ingestão de dieta hiperlipídica (TODD et al., 2002).

Porém, um resultado extremamente interessante e inédito observado no presente estudo, é que o exercício acumulado, na vigência de dieta hiperlipídica, resultou em diminuição na captação de lipídeos da dieta, provavelmente de forma simultânea aumentando a taxa de oxidação de lipídeos, modulada pela ação periférica da leptina.

A leptina pode ainda ser associada a efeitos profundos no metabolismo muscular, resultando em aumento na capacidade de oxidação de ácidos graxos e diminuição dos estoques de triglicerídeos nesse tecido. Assim, a resistência à ação da leptina no músculo, comumente observadas em animais experimentais e pessoas obesas pode levar a resistência insulínica nesse tecido, permitindo então o acúmulo intramuscular de lipídeos e a interrupção da via de sinalização da insulina (DYCK, 2005).

Assim, poderíamos sugerir que o exercício acumulado em ratos alimentados com dieta hiperlipídica foi mais efetivo na modulação desses mecanismos, inibindo a resistência leptínica, e provavelmente contribuindo para o

aumento na sensibilidade insulínica. Resultados semelhantes observados por Dick (2005) sustentam esta hipótese. De fato, somente o exercício acumulado promoveu normalização da leptinemia dos animais, o que explica ao menos parcialmente o porquê o exercício acumulado foi mais efetivo na redução da síntese lipídica, no controle da massa corporal e na redução da adiposidade visceral e central. Esses efeitos sugerem que o exercício acumulado promoveu aumento no gasto energético em comparação ao exercício contínuo.

Além disso, foi observado no presente estudo que o exercício promoveu aumento no peso relativo do tecido adiposo marrom (TAM). Essa adaptação pode ser parcialmente explicada devido ao fato de que exercício de natação produz mudanças, através da aclimatização ao frio, que suprimem a baixa termogênese induzida pela dieta hiperlipídica. Estudos prévios demonstraram que o TAM é um importante sítio facultativo de termogênese (*non-shivering*), que é estimulado pela administração de hormônio da tireóide, estimulação do sistema nervoso simpático pelo exercício, pelo frio, ingestão alimentar e pela leptina (SELL et al., 2004; MARGARETO et al., 2001; SULLO et al., 2004; WESTERTERP, 2004; PAVAN, 2000).

Especificamente em relação a leptina na estimulação da termogênese verificou-se que este hormônio é capaz de aumentar a expressão da UCP1, principal proteína desacopladora da função fosforilativa na mitocôndria do tecido adiposo marrom, aumentando assim a termogênese (COMMINS et al., 1999). Além disso, o exercício pode aumentar a expressão das UCP 1 e UCP 3, expressa no tecido muscular, por estimulação β adrenérgica (MARGARETO et al., 2001 e SAMEE et al., 1998). Assim, os resultados do presente estudo sugerem que o exercício acumulado foi mais efetivo do que o contínuo em estimular o gasto energético dos animais,

promovendo melhor controle da adiposidade. De fato, no presente estudo somente o exercício acumulado normalizou a leptinemia nos animais alimentados com dieta hiperlipídica.

O tecido hepático, o tecido adiposo branco e o músculo representam sítios chaves na regulação da fisiopatologia da resistência insulínica. Defeitos na sinalização levam a insuficiência na supressão da produção de glicose via aumento da gliconeogênese no fígado, levando a redução na captação da glicose, tanto pelo músculo quanto pelo tecido adiposo. No tecido adiposo, a resistência à ação da insulina promove aumento na taxa lipolítica. A lipogênese também pode ser modificada pela redução na transcrição de fatores gênicos envolvidos na síntese de lipídeos. Neste contexto, o estoque de ácidos graxos livres (AGL) no fígado é resultante principalmente do elevado nível de ácidos graxos liberados pelo tecido adiposo, aumentando desse modo a lipogênese *de novo* no fígado, e em menor extensão este tecido capta os quilomícrons da dieta. Dependendo do estado nutricional e hormonal, os AGL no fígado são oxidados nas mitocôndrias, ou são ainda re-esterificados, formando TG, que em seguida podem ser acumulados no citosol ou secretados como VLDL (PERLEMUTER et al., 2007; BEGRICHE et al., 2006).

No entanto, quando a síntese de TG pelo tecido hepático excede a secreção esse sistema torna-se exacerbado aumentando a quantidade de gordura acumulada no fígado. Este fenômeno pode resultar no desenvolvimento da esteatose hepática não-alcoólica (NAFLD) (PERLEMUTER et al., 2007).

Neste sentido, nossos resultados demonstram que a dieta hiperlipídica promoveu maior acúmulo de gordura no fígado dos animais sedentários quando comparados aos animais sedentários alimentados com dieta padrão, sem, entretanto apresentar alteração no peso relativo deste tecido em todos os grupos analisados, o

que pode ter ocorrido devido a uma diminuição do conteúdo de glicogênio hepático em resposta a dieta hiperlipídica, como previamente demonstrado (GAUTHIER et al., 2003).

Um dos resultados mais importantes observados no presente estudo foi que os dois tipos de exercício foram capazes de reduzir o acúmulo de gordura no fígado, suprimindo a esteatose hepática induzida pela dieta hiperlipídica, resultado semelhante ao encontrado por Gauthier et al., (2004) que também utilizou o percentual de gordura como um dos critérios de avaliação e diagnóstico da esteatose hepática não-alcoólica em ratos, validado pela análise histológica do hepatócito.

Sabe-se que a leptina é um hormônio amplamente associado à regulação da ingestão alimentar. No entanto, apresenta-se ainda relacionada à regulação das respostas inflamatórias, incluindo a esteatose hepática não alcoólica. Sabe-se ainda que pacientes obesos apresentam hiperleptinemia, fato este observado no presente estudo em ratos alimentados com dieta hiperlipídica. Neste sentido, o tratamento com leptina em pacientes obesos não tem demonstrado efeitos benéficos (FAGGIONI et al., 2000; FANTUZZI & FAGGIONI, 2000; MARRA, 2002).

No entanto, destaca-se no presente estudo que o protocolo de exercício acumulado demonstrou ser mais efetivo do que o exercício contínuo, uma vez que normalizou a leptinemia dos animais, bem como reduziu o conteúdo de gordura acumulado no fígado. Desta forma, conforme os resultados do presente estudo, o exercício acumulado apresenta-se como uma nova estratégia terapêutica não farmacológica de intervenção na esteatose hepática não alcoólica relacionada à obesidade.

Dados recentes revelam que o fígado é o principal regulador do fluxo metabólico no corpo, com entradas: do intestino via veia porta, da circulação geral via artéria hepática, e do sistema linfático. Os hepatócitos removem muitos produtos da circulação e os liberam em uma taxa moderada. Essa capacidade de captação, especialmente de lipídios, tem sido a mais importante chave no processo de iniciação da esteatose hepática (BRADBURY, 2006). O aumento no acúmulo de gordura no fígado pode ser devido ao alto suprimento de ácidos graxos livres (AGL) sem o concomitante aumento na β -oxidação (GAUTHIER et al., 2003) que ocorre em resposta ao incremento no gasto energético.

Esses novos achados sugerem a importância da aplicação de diferentes tipos de exercício em associação com outros tratamentos para o controle e redução da alta prevalência (50%) de esteatose hepática não-alcoólicas na população obesa, incluindo adolescentes (TOCK et al., 2006; DÂMASO et al., 2008).

Entretanto, dados de experimentos com animais de modo geral não possuem linearidade com pesquisas realizadas em seres humanos. No entanto, em recente estudo publicado pela British Journal of Nutrition intitulado; *"The utility of animal models of human energy homeostasis"*, os autores mencionaram que o modelo animal idealmente deve mimetizar o mais próximo possível as particularidades do treinamento físico em humanos, considerando-se as variáveis do controle neuro-endócrino da ingestão alimentar e do gasto energético, variáveis do metabolismo e da fisiologia dos adipócitos, sistema digestório e susceptibilidade das desordens metabólicas importantes para o entendimento da obesidade em seres humanos. Assim, historicamente tem sido predominantemente utilizados pequenos roedores, ratos e camundongos para o estudo da homeostase energética e da obesidade (THIBAULT et al., 2004).

7. CONCLUSÕES

Na vigência da dieta padrão, para os dois protocolos de exercício, foi observado redução na adiposidade visceral e central e melhora do perfil lipídico. Sendo observado somente nos animais submetido ao exercício acumulado um menor ganho de peso e acúmulo de gordura nos tecidos adiposos brancos retroperitoneal e visceral.

Quando alimentados com dieta hiperlipídica, os animais submetidos ao exercício contínuo apresentaram apenas redução no acúmulo de gordura no fígado. Por outro lado, os animais que foram submetidos ao exercício acumulado apresentaram redução no acúmulo de gordura hepática e na leptinemia, menor ganho de massa corporal e adiposidade visceral e central, além da melhora no perfil lipídico.

Em conclusão, nossa investigação reforçou as evidências de que o exercício é a mais importante estratégia não farmacológica no controle de doenças. O maior achado deste estudo foi que o exercício acumulado foi mais eficiente do que o contínuo em promover reduções dos efeitos adversos da dieta hiperlipídica e do sedentarismo, pois apresentou melhoras no perfil lipídico; redução do ganho de massa corporal e da adiposidade central e visceral e do acúmulo de gordura do fígado, contribuindo para o controle da obesidade e de suas co-morbidades.

8. REFERÊNCIAS

Achten J, Jeukendrup AE. Optimizing fat oxidation through exercise and diet. *Nutrition*. 2004; 20(7–8): 716–727.

Auwerx J, Staels B. Leptin. *Lancet*. 1998; 351:737-42.

Allison DB, Fontaine KR, Manson JE, Stevens J, VanItallie TB. Annual deaths attributable to obesity in the United States. *JAMA*. 1999; 282:1530-8.

Banks WA, Kastin AJ, Huang W, Jaspan JB, Maness LM. Leptin enters the brain by a saturable system independent of insulin. *Peptides*. 1996; 17: 305–311.

Barber T, Viña JR, Viña J, Cabo L. Decreased urea synthesis in cafeteria-diet-induced obesity in the rat. *Biochem. Journal*. 1985; 230:675-681.

Bellaver L, Vital MA, Arruda AM, 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*. 2001; 45(2):167-172.

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

Berggren JR, Hulver MW, Houmard JA. Fat as an endocrine organ: influence of exercise. *J Appl Physiol*. 2005; 99:757-764.

Begrache K et al. Mitochondrial dysfunction in NASH: causes, consequences and possible means to prevent it. *Mitochondrion*. 2006; 6:1-28.

Berraondo B, Marti A, Duncan JS, Trayhurn P, Martinez JA. Up-regulation of the muscle UCP 2 gene expression by a new beta 3-adrenoceptor agonist, trectadrine, in obese (cafeteria) rodents, but down-regulation in lean animals. *Int J Obes*. 2000; 24:156-163.

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. *New Engl J Med*. 1998; 338:1650-1656.

Bjorbaek C, Uotani S, da Silva B, Flier JS. Divergent signaling capacities of the long and short isoforms of the leptin receptor. *J Biol Chem* 1997;272:32686-95.

Bjorbaek C, Buchholz RM, Davis SM, Bates SH, Pierroz DD, Gu H, et al. Divergent roles of SHP-2 in ERK activation by leptin receptors. *J Biol Chem* 2001;276:4747-55.

Bonadonna, RC, Groop LC, Zych K, Shank M, DeFronzo RA. Dose-dependent effect of insulin on plasma free fatty acid turnover and oxidation in humans. *Am. J. Physiol*. 1990; 259:736-50.

Boden G, Chen X, Mozzoli M. Effects of fasting on serum leptin in normal human subjects. *J Clin Endocrinol Metab.*1996; 81:3419-3423.

Botero JP, Prado WL, Guerra RLF, Galdino R, Baldissera V, Santilli Junior J, Peres SEA, Dâmaso AR. Efeitos de diferentes intensidades de exercícios sobre a composição corporal de mulheres obesas. *Arq. Bras. Endocrinologia & Metabologia.* 2003;47(4):S417.

Bradbury, MW. Lipid metabolism and liver inflammation. I. Hepatic fatty acid uptake: possible role in steatosis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.*2006;290(2):194–198.

Bray G. Progress in understanding the genetics of obesity. *J Nutr.*1997;127:940S-42.

Brooks GA, Butte NF, Rand WM, Flatt JP, Caballero B. Chronicle of the Institute of Medicine physical activity recommendation: How a physical activity recommendation came to be among dietary recommendations. *Am J Clin Nutr.*2004;79(5):921S–930S.

Burneiko RCM, Diniz YS, Galhardi CM, et al. Interaction of hypercaloric diet and physical exercise on lipid profile, oxidative stress and antioxidant defenses. *Food Chem Toxicol.*2006; 44(7):1167–1172

Campbell PJ, Carlson MG, Hill JO, Nurjhan N. Regulation of free fatty acid metabolism by insulin in humans: role of lipolysis and reesterification. *Am. J. Physiol.*1992; 263:1063-69.

Caranti DA, de Mello MT, Prado WL, Tock L, Siqueira KO, de Piano A, Lofrano MC, Cristofalo DM, Lederman H, Tufik S, Dâmaso AR. Short- and long-term beneficial effects of a multidisciplinary therapy for the control of metabolic syndrome in obese adolescents. *Metabolism.* 2007;56(9):1293-300.

Carnier J, Lofrancoi MC, Prado WL, Caranti DA, de Piano A, Tock L, Nascimento CMO, Oyama LM, Mello MT, Tufik S, Dâmaso AR. Hormonal alteration in obese adolescents with Eating Disorder: Effects of Multidisciplinary Therapy. *Horm Res* 927. 2000; in press: DOI101159/000XXXXXX.

Caro JF, Sinha NK, Kolaczynski JW, Zhang PL, Considine RV. Leptin: The tale of and obesity gene. *Diabetes.*1996; 45:1455-1462.

Carvalho JB, Siloto RM, Ignacchitti I, Brenelli SL, Carvalho CR, Leite A, et al. Insulin modulates leptin induced STAT3 activation in rat hypothalamus. *FEBS Lett.* 2001;500:119-24.

Carvalho JB, Ribeiro EB, Folli F, Velloso LA, Saad MJ. Interaction between leptin and insulin signaling pathways differentially affects JAK-STAT and PI 3-kinase-mediated signaling in rat liver. *Biol Chem.* 2003;384:151-9.

Carvalho JB, Torsoni MA, Ueno M, Amaral ME, Araújo EP, Velloso LA, et al. Cross-talk between the insulin and leptin signalling systems in rat hypothalamus. *Obes Res.* 2005;13:48-57

Cezar CS. 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.

Cheik NC, Guerra RLF, Viana FP, Rossi EA, Carlos IZ, Vendramini R, Duarte ACGO, Dâmaso AR. Efeito de diferentes freqüências de exercício físico na prevenção da dislipidemia e da obesidade em ratos normo e hipercolesterolêmicos. *Rev Bras Educ Fís Esp*, 2006; .20(2):121-129.

Cheng B, Karamizrak O, Noakes TD, Dennis SC, Lambert EV. Time course of the effects of a high-fat diet and voluntary exercise on muscle enzyme activity in Long-Evans rats. *Physiology Behav*. 1997;61(5):701-5.

Christensen JO, Svedsen OL, Hassager C, Christiansen C. Leptin in overweight postmenopausal women: no relationship with metabolic syndrome X or effect of exercise in addition to diet. *Int J Obes Relat Metab Disord*.1998; 22:195-199.

Chua Jr. SC, Chung WK, Wu-Peng XS, Zhang Y, Liu SM, Tartaglia L, et al. Phenotypes of mouse diabetes and rat fatty due to mutations in the OB (leptin) receptor. *Science*. 1996;271:994-6.

Cinti S. The adipose organ. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*.2005; 73(1):9–15.

Cinti, S. The adipose organ: morphological perspectives of adipose tissues. *Proc. Nutr. Soc*. 2001; 60: 319–328.

Clement K, Langin D. Regulation of inflammation-related genes in human adipose tissue. *J Inter Med*.2007; 262:422-430.

Commins SP, Watson PM, Padgett MA, Dudley A, Argyropoulos G, Gettys TW. Induction of uncoupling protein expression in brown and white adipose tissue by leptin. *Endocrinology*. 1999;140: 292–300.

Considine RV, Cooksey RC, Williams LB, Fawcett RL, Zhang P, Ambrosius WT et al. Hexosamines regulate leptin production in human subcutaneous adipocytes. *J Clin Endocrinol MetaB*. 2000; 85:3551-6.

Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR, Ohannesian JP, Marco CC, McKee LJ, and Bauer TL. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med*.1996; 334: 292–295.

Cummings DE, Weigle DS, Frayo RS, Breen PA, Ma MK, Dellinger EP, and Purnell JQ. Plasma ghrelin levels after diet-induced weight loss or gastric bypass surgery. *N Engl J Med*. 2002; 346: 1623–1630.

Curi R, Pompéia C, Miyasaka CK, Procópio J. Entendendo a gordura: os ácidos graxos. São Paulo: Manole; 2002.

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. Dissertação Doutorado, UNIFESP-EPM, S.P., 1996.

Dâmaso, A. R. *Obesidade*, 1a Ed. Medsi. Rio de Janeiro .540p, 2003.

Dâmaso AR, do Prado WL, de Piano A, Tock L, Caranti DA, Lofrano MC, Carnier J, Cristofalo DJ, Lederman H, Tufik S, de Mello MT. Relationship between nonalcoholic fatty liver disease prevalence and visceral fat in obese adolescents. *Dig Liver Dis*. 2008;40(2):132-9.

Dâmaso AR, Tock L, Prado W, Piano A, Caranti DA, Tufik S, Mello MT. Multidisciplinary therapy reduce visceral adipose tissue, leptin, ghrelin and prevalence of the non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) in obese adolescents (in Portuguese) *Braz J Sports Medicine*, 2006;12 (5): 1-6.

De Busk RF, Stenestrand U, Sheehan M, Haskell WL. Training effects of long versus short bouts of exercise in healthy. *Am J Cardiol*.1990; 65(15):1010-3.

Denadai RC. Sigulem DM, Vítolo MR, Fisberg M, Damaso AR. Efeitos da atividade motora sobre a composição corporal, taxa metabólica basal e diária de adoslecentes obesos. *Revista Paulista de Pediatria*.1996; 14(4):163-68.

Diniz YS, Fernandes AA, Campos KE, Mani F, Ribas BO, Novelli EL. Toxicity of hypercaloric diet and monosodium glutamate: oxidative stress and metabolic shifting in hepatic tissue. *Food Chem Toxicol*.2004; 42(2):319–325.

Dizdar O., Alyamaç E. Obesity: an endocrine tumor? *Med Hypotheses*.2004; 63(5):790–792.

Donnelly JE, Jacobsen DJ, Heelan KS, Seip R, Smith S. The effects of 18 months of intermittent vc. Continuous exercise on body weight and composition and metabolic fitnss in sedentary, moderatetly obese females. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2000; 24(5):566-72.

Duarte ACGO, Fonseca DF, Manzoni MSJ, et al. High-fat diet and secretory capacity of insulin in rats. *Rev Nutr*.2006; 19(3):341–348

Duarte FO, Sene-Fiorese M, Manzoni MS, de Freitas LF, Cheik NC, Garcia de Oliveira Duarte AC, Nonaka KO, Dâmaso A. Caloric restriction and refeeding promoted different metabolic effects in fat depots and impaired dyslipidemic profile in rats. *Nutrition*. 2008;24(2):177-186.

Duarte FO, Sene MO, Oishi JC et al. O exercício de final de semana contribui para o controle das dislipidemias em ratos adultos machos alimentados com dieta rica em gorduras. *Rev Bras Fisioter*, 2003; 7:229-35.

Dyck DJ. Leptin sensitivity in skeletal muscle is modulated by Diet and exercise. *Exerc Sport Sci Rev*. 2005, 33(4):189-194.

El Haschimi K, Pierroz DD, Hileman SM, Bjorbaek C, Flier JS. Two defects contribute to hypothalamic leptin resistance in mice with diet-induced obesity. *J Clin Invest.* 2000;105:1827–1832.

Elias AN, Pandian MR, Wang L, Suarez E, James N, Wilson AF. Leptin and IGF-I levels in unconditioned male volunteers after short-term exercise. *Psychoneuroendocrinology.* 2000;25:453-461.

Einstein FH, Atzmon G, Yang XM, Ma XH, Rincon M, Rudin E, Muzumdar R, Barzilai N. Differential responses of visceral and subcutaneous fat depots to nutrients. *Diabetes.* 2005; 54:672-678.

English PJ, Ghatei MA, Malik IA, Bloom SR, and Wilding JP. Food fails to suppress ghrelin levels in obese humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002; 87: 2984-

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 LM, Dâmaso AR, Ribeiro EB, Oller do Nascimento CM. Effect of palatable hyperlipidic diet on lipid metabolism of sedentary and exercised rats. *Nutrition* 2004; 20:218-24.

Even PC, 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.* 1998; 47(7):777–782.

Faggioni R, Jones-Carson J, Reed DA, Dinarello CA, Feingold KR, Grunfeld C, Fantuzzi G. Leptin-deficient (*ob/ob*) mice are promoted from T cell-mediated hepatotoxicity: role of tumor necrosis factor α and IL-18. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2000; 97:2367-2372.

Fantuzzi G, Faggioni R. Leptin in the regulation of immunity, inflammation, and hematopoiesis. *J Leukoc Biol.* 2000; 68:437-446.

Ferrannini E, Bjorntorp P, Deslypere JP, Guy-Grand B, Ravussin E, Schutz Y, Sorensen T, Stern M, Walker M. Cardiovascular Disease. In: *Obesity*, by Colwood House Medical Publications (UK) Limited, the Mitfords, Basingstake Road, Thee Mile Cross, Reading, Berkshire, RG 7 1AT, UK, 1996.

Ferreira FC. Adaptações somáticas à programa de exercício moderado em natação, em ratos machos jovens alimentados com dieta hipercalórica (Monografia). São Carlos, 2002.

Flores MBS, Fernandes MFA, Ropelle ER, Faria MC, Ueno M, Velloso LA, Saad MJA, Carvalheira JBC. Exercise improves insulin and leptin sensitivity in Hypothalamus of Wistar Rats. *Diabetes.* 2006;55:2554- 2561.

Fogtelloo AJ, Pijl H, Frolich M, McCamish M, and Meinders AE. Effects of recombinant human leptin treatment as an adjunct of moderate energy restriction on body weight, resting energy expenditure and energy intake in obese humans. *Diabetes Nutr Metab.* 2003;16: 109–114.

Foster-Schubert KE, Cummings DE. Emerging therapeutic strategies for obesity. *Endocr Rev.* 2006; 27(7):779-93.

Frayn KN. Adipose tissue as a buffer for daily lipid flux. *Diabetologia* 2002; 45:1201-10.

Friedman JM. The function of leptin in nutrition, weight and physiology. *Nutrition Rev.* 2002; 60(10): S 1-14.

Frühbeck G, Ambrosi JA, Muruzábal FJ, Burrell MA. The adipocyte: a model for integration of endocrine and metabolic signaling in energy metabolism regulation. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2001; 208:E827-47.

Fulton JE, Masse LC, Heesch KC, Watson, K B, Tortolero SR, Blair SN, et al. Comparison of energy expenditure in intermittent and continuous physical activity. *Med Sci Sports Exerc.* 1997; 29(5):S155.

Gaíva MHG, Couto RC, Oyama LM, Couto GEC, Silveira VLF, Riberio EB, et al. Polyunsaturated fatty acid-rich diets: effect on adipose tissue metabolism in rats. *Br J Nutr* 2001; 86:371-77.

Gauthier MS, Couturier K, Latour JG, Lavoie JM. Concurrent exercise prevents high-fat-diet-induced macrovesicular hepatic steatosis. *J Appl Physiol.* 2003; 94(6):2127–2134.

Gauthier MS, Couturier K, Charbonneau A, Lavoie JM. Effects of introducing physical training in the course of a 16-week high-fat diet regimen on hepatic steatosis, adipose tissue fat accumulation, and plasma lipid profile. *International Journal of Obesity.* 2004; 28:1064–1071.

Ge H, Huang L, Pourbahrami T, and Li C. Generation of soluble leptin receptor by ectodomain shedding of membrane-spanning receptors in vitro and in vivo. *J Biol Chem.* 2002; 277: 45898–45903.

Giacchetti G, Faboia E, Sardu C, Camilloni MA, Garrapa GGM, Guerrieri M, Montero F. Gene expression of angiotensinogen in adipose tissue of obese patients. *Int J Obes.* 1998; 22(Suppl 3) p28:S2103.

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.* 1988;20(4):.208-212.

Grillo CM. Physical Activity and Obesity. *Biomed & Pharmacother.* 1994; 56:127-36.

Guerra RL, Prado WL, Cheik NC, Viana FP, Botero JP, Vendramini RC, Carlos IZ, Rossi EA, Dâmaso AR. Effects of 2 or 5 consecutive exercise days on adipocyte area and lipid parameters in Wistar rats. *Lipids Health Dis.* 2007;6(16):1-8.

Hamilton BS, Paglia D, Kwan AYM, Deitel M. Increased obese mRNA expression in omental fat cells from massively obese humans. *Nat Med.*1995;1:953-956.

Hansen TK, Dall R, Hosoda H, Kojima M, Kangawa K, Christiansen JS, and Jorgensen JO. Weight loss increases circulating levels of ghrelin in human obesity. *Clin Endocrinol.* 2002; 56:203–206.

Hassink SG, Lancey E, Sheslow DV, Smith-Kyrwin SM, O'Connor DM, Considine RV et al. Placental leptin: an important new growth factor in intrauterine and neonatal development? *Pediatrics.*1997; 100(1):1-6.

Hausman DB, Digirolamo M, Bartness TJ, Hausman GJ, Martin RJ. The biology of white adipocyte proliferation. *Obes Rev.*2001; 2; 239-54.

Hedley AA, Ogden CL, Johnson COL et al. Prevalence of overweight and obesity among US children, adolescents and adults, 1999-2002. *JAMA.*2004; 291:2847-50.

Helge JW. Long-term fat diet adaptation effects on performance, training capacity, and fat utilization. *Med Sci Sports Exerc.*2002; 34(9):1499–1504.

Helge JW, Kiens B. Muscle enzyme activity in man: role of substrate availability and training. *American Journal of Physiology.* 1997. 272:R1620-1624.

Helge JW, Watt PW, Richter EA, Rennie MJ, Kiens B. Fat utilization during exercise: adaptation to a fat-rich diet increases utilization of plasma fatty acids and very low density lipoprotein-triacylglycerol in humans. *J Physiol.*2001; 537(Pt 3):1009–1020.

Heymsfield SB, Greenberg AS, Fujioka K, Dixon RM, Kushner R, Hunt T, Lubina JA, Patane J, Self B, Hunt P, and McCamish M. Recombinant leptin for weight loss in obese and lean adults: a randomized, controlled, dose-escalation trial. *JAMA* 282: 1568– 1575, 1999.

Hida K, Wada J, Eguchi J, et al. Visceral adipose tissue-derived serine protease inhibitor: A unique insulin-sensitizing adipocytokine in obesity. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005; 102(30): 10610–10615.

Hinney A, Hoch A, Geller F, Schafer H, Siegfried W, Goldschmidt H, Remschmidt H, and Hebebrand J. Ghrelin gene: identification of missense variants and a frameshift mutation in extremely obese children and adolescents and healthy normal weight students. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87: 2716.

Horowitz JF. Fatty acid mobilization from adipose tissue during exercise. *Trends Endocrinol Metab.*2003; 14(8):386–392.

Horowitz, JF. Regulation of lipid mobilization and oxidation during exercise in obesity. *Exerc. Sport Sci. Rev.* 1997;29(1): 42-46.

Houmard Ja, Cox JH, MacLean PS, Baratak HA. Effect of short-term exercise training on leptin and insulin action. *Metabolism*.2000; 49:858-861.

Instituto Brasileiro Geografia e Estatística (IBGE). Pesquisa de Orçamentos Familiares - POF 2002-2003, 2004. Disponível em : <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pof/2002analise/default.shtm>

Jenkins AB, Markovic TP, Fleury A, Campbell LV. Carbohydrate intake and short-term regulation of leptin in humans. 1997 *Diabetologia*; 40:348-51.

Kaplan, LA, Pesce AP. *Clinical Chemistry-theory, analysis and correlation*, 2º ed, 1989.

Kellerer M, Koch M, Metzinger E, Mushack J, Capp E, Haring HU. Leptin activates PI-3 kinase in C2C12 myotubes via janus kinase-2 (JAK-2) and insulin receptor substrate-2 (IRS-2) dependent pathways. *Diabetologia*. 1997;40:1358-62.

Kelly LJ, Vicario PP, Thompson GM, Candelore MR, Doebber TW, Ventre J, Wu MS, Meurer R, Forrest MJ, Conner MW, Cascieri MA, Moller DE. Peroxisome proliferator-activated receptors gamma and alpha mediate in vivo regulation of uncoupling protein (UCP 1, UCP 2, UCP 3) gene expression. *Endocrinology*.1998;139:4920-4927.

Kim CH, Youn JH, Park JY, Hong SK, Park KS, et al. Effects of high-fat diet and exercises training on intracellular glucose metabolism in rats. *Am J Physiol*.2000; 278:977-984.

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*.1994; 202:519-526.

Kolaczynski JW, Considine RV, Ohannesian J, Marco C, Opentanova I, Nyce MR. Responses of leptin to short-term fasting and refeeding in humans. *Diabetes*.1996; 45:1511-5.

Kolaczynski JW, Ohannesian J, Considine RV. Response to leptin to short-term and prolonged overfeeding in humans. *J Clin Endocrinol Metab*.1996; 81:4162-4165.

Kondo T, Kobayashi I, Murakami M. Effect of exercise on circulating adipokine levels in obese young women. *Endocrine Journal*.2006;53(2):189-195.

Kretschmer BD, Schelling P, Beir N, Liebscher C, Treutel S, Krüger N, Scholz HP, Haus A. Modulatory role of food, feeding regime and physical exercise on body weight and insulin resistance. *Life Sciences*.2005; 76:1553-1573.

Krssak M, Falk Petersen K, Dresner A, et al. Intramyocellular lipid concentrations are correlated with insulin sensitivity in humans: a ¹HNMR spectroscopy study. *Diabetologia*.1999; 42:113-6.

Kusunoki M, Storlien LH, MacDessi J, Oakes ND, Kennedy C, et al. Muscle glucose uptake during and after exercise is normal in insulin-resistant rats. *Am. J. Physiol.* 1993; 264(27):167-172.

Landsberg L, Saville ME, Young JB. Sympathoadrenal system and regulation of thermogenesis. *Am J Physiol.* 1984; 247:E181-E189.

Lee GH, Proenca R, Montez JM, Carroll KM, Darvishzadeh JG, Lee JI, Friedman JM. Abnormal splicing of the leptin receptor in diabetic mice. *Nature.* 1996; 379: 632–635.

Leibel RL. The role of leptin in the control of body weight. *Nutrition Rev.* 2002; 60(10): S15-19.

Levin BE and Dunn-Meynell AA. Reduced central leptin sensitivity in rats with diet-induced obesity. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 283: R941–R948, 2002.

Lin L, Martin R, Schaffhauser AO, York DA. Acute changes in the response to peripheral leptin with alteration in the diet composition. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2001;280: R504–R509.

Loss R, Bouchard C. Obesity – is it a genetic disorder? *J Intern Med.* 2003; 254:401-425.

Lovoie JM, Yasari S, Abdennadher M, Paquette A. Effects of alternations (10 days) of high-fat with normal diet on liver lipid infiltration, fat gain, and plasma metabolic profile in rats. *Physiol Behav.* 2005; 86(4): 442–448.

Maffei M, Halaas J, Ravussin E, Pratley RE, Lee GH, Zhang Y, Fei H, Kim S, Lallone R, Ranganathan S, Kern PA, Friedman JM. Leptin levels in human and rodents: measurements of plasma leptin and obRNA in obese and weight-reduced subjects. *Nat Med.* 1995; 1:1155-1161.

Mahoney LT, Burns TL, 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.* 1996; 27:277-84.

Mantzoros CS, Plasad AS, Beck F, Grabowaski S, Kaplan J, Adair C et al. Zinc may regulate serum leptin concentration in humans. *J Am Coll Nutr.* 1998, 17:210-5.

Matson CA, Wiater MF, Weigler BS. Leptin and the regulation of body adiposity. A critical review. *Diabetes.* 1996; 4:488-508.

Manzoni MSJ, Rossi EA, Carlos IZ, Vendramini RC, Duarte AC, Dâmaso AR. Fermented soy product supplemented with isoflavones affected fat depots in juvenile rats. *Nutrition.* 2005; 21(10):1018–1025.

Margareto J, Marti A, Martínez 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 PPARgamma. *J Nutr Biochem.* 2001; 12(3):130–137.

Marra F. Leptin and liver fibrosis: a matter of fat. *Gastroenterology*.2002; 122:1529-1532.

Matsudo VKR. Exercícios acumulados funcionam? *Diagnóstico & Tratamento*. 2005; 10(3):163–165.

Matsudo VKR, Matsudo SMM, Araújo TL, Ribeiro MA. Dislipidemias e a promoção da atividade física: uma revisão na perspectiva de mensagens de inclusão. *Bras. Ci e Mov*. 2005; 13(2): 161-170.

Matsudo SM, Matsudo VR, Araújo TL, et al. The Agita São Paulo Program as a model for using physical activity to promoted health. *Rev Panam Salud Pública*. 2003; 14(4): 265-72.

Matsudo V, Matsudo S, Andrade D et al. Promotion of physical activity in a development country: the Agita São Paulo experience. *Public Health Nutr*. 2002; 5(1A):253-61.

Mikines KJ, Sonne B, Farrell PA, Tronier B, Galbo H. Effect of physical exercise on sensitivity and responsiveness to insulin in humans. *Am J Physiol*.1988; 254(3):E248–259.

Mokdad AH, Ford ES, Bowman BA Prevalence of obesity, diabetes and obesity-related health risk factors. *JAMA*. 2003; 289:76-9

Montague CT, Prins JB, Sanders L, Digby JE, O’Rahilly S. Depot and sex-specific differences in humans leptin mRNA expression: implications for the control of regional fat distribution. *Diabetes*.1997; 46:342-347.

Monteiro CA, Conde LW, Matsudo SMM, Matsudo VKR, Bonseñor IM, Lotufo PA. A descriptive epidemiology of leisure-time physical activity in Brasiliul, 1996-1997. *Pan Am J Public Health*. 2003; 14: 246-254.

Mori H, Hanada R, Hanada T, Aki D, Mashima R, Nishinakamura H, Torisu T, Chien KR, Yasukawa H, and Yoshimura A. Socs3 deficiency in the brain elevates leptin sensitivity and confers resistance to diet-induced obesity. *Nat Med*.2004; 10: 739–743.

Morton GJ. Hypothalamic leptin regulation of energy homeostasis and glucose metabolism. *J Physiol*. 2007 Sep 1;583(Pt 2):437-43. Epub 2007 Jun 21.

Munzberg H, Myers Jr. MG. Molecular and anatomical determinants of central leptin resistance. *Nat Neurosci*. 2005; 8:566-70.

Murphy MH, Hardman AE. Training effects of short and long bouts of brisk walking in sedentary women. *Med Sci Sports Exerc*.1998; 30(1):196-202.

Nishi Y, Isomoto H, Uotani S, Wen CY, Shikuwa S, Ohnita K et al. Enhanced production of leptin in gastric fundic mucosa with *Helicobacter pylori* infection. *World J Gastroenterol.* 2005; 11(5):695-9.

Oh-Ishi S, Kizaki T, Toshinai K, Haga S, Fukuda K, Nagata N, Ohno H. Swimming training improves brown adipose –tissue activity in young and old mice. *Mechanisms of Aging and Development.* 1996;89:67-78.

Oller do Nascimento CM, Habitante CA, Oyama LM. Tecido Adiposo como Órgão Endócrino in Damaso AR. *Obesidade.* 2003. 1ª. ed. Ed Medsi. Cap.14:247- 256.

Oller do Nascimento CM, Willianson DH. Evidence for conservation of dietary lipid in the rat during lactation and the immediate period after removal of the litter. Decreased oxidation of oral [1-14C] triolein. *Biochem J.* 1986; 239(1): 233–236.

Oscari LB, Miller EC, Arnall DA. Effects of dietary sugar and of dietary fat on food intake and body fat content in rats. *Growth.* 1987; 51:64-73.

Pan DA, Lillioja S, Kriketos AD et al. Skeletal muscle triglyceride levels are inversely related to insulin action. *Diabetes.* 1997; 46:983-6.

Pate RR, Pratt M, Blair SN, et al. Physical activity and public health. A recommendation from the Centers for Disease Control and Prevention and the American College of Sports Medicine. *JAMA;* 1995; 273(5):402–407.

Pereira LO, Francischi RP, Lancha Jr AH. *Obesidade: Hábitos Nutricionais, Sedentarismo e resistência a insulina.* *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2003; 47(2):111-127.

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. *Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas), UFSCar, 2000.*

Pavan F, Sene MO, Oishi JC, Habitante CA, Dâmaso AR, Perez SEA. Effects of the moderated training (running or swimming) on lipid synthesis and others parameters nutritional in female rats during cycle reproductive in two generations. *R Metab Nutr.* 2003; 7 (2):38-51.

Podolin DA, Wey Y, Pagliassotti MJ. Effects of a high-fat diet and voluntary wheel running on gluconeogenesis and lipolysis in rats. *J Appl Physiol.* 1999; 86(4):1374-1380.

Pomerleau M, Imbeault P, Parker T, Doucett E. Effects of exercise intensity on food intake and appetite in women. *Am J Clin Nut.* 2004; 80:1230-6.

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

Prado WL. Efeitos do tratamento multidisciplinar sobre os fatores orexígenos, anorexígenos, pró e antiinflamatórios em adolescentes obesos. Tese (Doutorado em Ciências) São Paulo. UNIFESP. 2007.

Rajala MW, Scherer PE. Minireview: the adipocyte —at the crossroads of energy homeostasis, inflammation, and atherosclerosis. *Endocrinology*. 2003;144:3765–73.

Ranneries C, Bülow J, Buemann B, Chirstensen NJ, Madsen J, Astrup A. Fat metabolism in formerly obese women. *Am. J. Physiol*. 1998; 274: 155-61,

Reitman ML, He Y, Gong DW. Thyroid hormone and other regulators of uncoupling proteins. *Int J Obes Relat Metab Disord*.1999; 23:S56-S59.

Reseland JE, Anderssen SA, Solvoll K, Hjermmann I, Urdal P, Holme I, Drevon CA. Effect of a long-term changes in diet and exercise on plasma leptin concentration. *Am J Clin Nutr*.2001; 73:240-245.

Robinson AM, Willianson DH. Control of glucose metabolism in isolated acini of the lactating mammary gland of the rat. Effects of oleate on glucose utilization and lipogenesis. *Biochem J*.1978;170(3):609–613.

Rodríguez A, Catalán V, Gómez-Ambrosi J, Frühbeck G. Visceral and subcutaneous adiposity: are both potential therapeutic targets for tackling the metabolic syndrome. *Curr Pharm Des*.2007;13(21):2169-75.

Romijn JA, Coyle EF, Sidossis L, Gastaldelli A, Horowitz JF, Endert E, Wolfe RR. Regulation of endogenous fat and carbohydrate metabolism in relation to exercise intensity and duration. *Am. J. Physiol*.1993; 265(28); 380-91.

Ruby BC, Robergs RA. Gender differences in substrate utilization during exercise. *Sport Med*. 1994; 17(6): 393-410.

Sahu A. Resistance to the satiety action of leptin following chronic central leptin infusion is associated with the development of leptin resistance in neuropeptide Y neurones. *J Neuroendocrinol*. 2002; 14: 796– 804.

Samee S, Seydoux J, Dulloo AG. Role of UCP homologues skeletal muscles brown adipose tissue mediators of thermogenesis or regulators of lipids a fuel substrate. *FASEB J*.1998; 12:715-724.

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

Sclafani A, Springer D. Dietary obesity in adult rats similarities to hypothalamic and human obesity syndrome. *Physiol. Behav*.1976;17:461-471.

Sell H, Deshaies Y, Richard D. The brown adipocyte: update on its metabolic role. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 2004; 36:2098–2104.

Sene MO, Duarte FO, Manzoni MJ, Cheik NC, Sentanin AC, Barbosa GO, Tenório N, Dâmaso AR. Efeitos da Dieta Hiperlipídica no desenvolvimento da Síndrome X. *Arq. Bras. Endocrinologia & Metabologia*. 2003; 47(4):S387.

Sene MO, Habitante CA, Oishi JC, Galdino R, Oyama LM, Perez SEA, Nascimento CMO, Dâmaso AR. Taxa de lipogênese pós-esforço em ratas lactantes exercitadas cronicamente. *Motriz*. 2002; 8(2):57-61.

Scarpace PJ, Matheny M, Tümer N, Cheng KY, Zhang Y. Leptin resistance exacerbates diet-induced obesity and is associated with diminished maximal leptin signaling capacity in rats. *Diabetologia*. 2005; 48:1075-1083.

Smith-Kyrwin SM, O'Connor DM, De Johnston J, Lancey ED, Hassink SG, Funanag VL. Leptin expression in human mammary epithelial cells and breast milk. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998; 83(5):1810-3.

Spranger J, Kroke A, Mohlig M, Bergmann MM, Ristow M, Boeing H, Pfeiffer AF. Adiponectin and protection against Type 2 diabetes mellitus. *Lancet*. 2003; 361:226-228.

Stansbie D, Brownsey RW, Crettaz M, Denton RM. Acute effects in vivo of anti-insulin serum on rates of fatty acid synthesis and activities of acetyl-coenzyme A carboxylase and pyruvate dehydrogenase in liver and epididymal adipose tissue of fed rats. *Biochem J*. 1976; 160:413-6.

Stanley S, Wynne K, McGowan B, Bloom S. Hormonal regulation of food intake. *Physiol Rev*. 2005;85(4):1131-58.

Straczkowski M, Kowalska I, Dzienis-Straczkowska S, Kinalksi M, Gorski J, Kinalsa I. The effect of exercise training on glucose tolerance and skeletal muscle triacylglycerol content in rats fed with a high-fat diet. *Diabetes Metab*. 2001;27:19-23.

Sullo A, Brizzi G, Maffulli N. Triiodothyronine deiodinating activity in brown adipose tissue after short cold stimulation test in trained and untrained rats. *Physiol Res*. 2004; 53(1): 69–75.

Tartaglia LA. The leptin receptor. *J Biol Chem*. 1997; 272: 6093–6096.

Thibault L, Woods SC, Westerterp-Plantenga MS. The utility of animal models of human energy homeostasis. *British Journal of Nutrition*. 2004; 92(1):S41-S45.

Tock L, Prado WL, Caranti DA, Cristofalo DM, Lederman H, Fisberg M, Siqueira KO, Stella SG, Antunes HK, Cintra IP, Tufik S, de Mello MT, Dâmaso AR. Nonalcoholic fatty liver disease decrease in obese adolescents after multidisciplinary therapy. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2006; 18(12):1241-5.

Todd MK, Hevener AL, Turcotte LP. Troglitazone normalizes plasma FA levels in high fat fed rats by increasing FA uptake in skeletal muscle. *Diabetes*. 2002;50:A337.

Todd MK, Yaspelkis III BB, Turcotte LP. Short-term leptin treatment increases fatty acids uptake and oxidation in muscle of high fat-fed rats. *Metabolism Clinical and Experimental*. 2005; 54:1218-1224

Tou JCL, Wade CE. Determinants affecting physical activity levels in animal models. *Exp Biol Med*. 2002;227(8):587-600.

Trayhurn P. Adipocyte biology. *Obes Rev*. 2007;8 (1):41-4.

Trayhurn P, Bing C. Appetite and energy balance signals from adipocytes. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2006;361(1471):1237-49.

Trayhurn P, Bing C, Wood S. Adipose Tissue and Adipokines—Energy Regulation from the Human Perspective. *J. Nutr*. 2006;136: 1935S–1939S.

Trayhurn P, Moira EA, Duncan JS, Rayner DV. Effects of fasting and refeeding on ob gene expression in white adipose tissue of lean and obese mice. *FEBS Lett*. 1995; 368:488-490.

Trayhurn P, Wood IS. Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. *Br J Nutr*. 2004;92:347–55

Trinder, R. *Ann. Clin Biochem.*, v.6, p.24, 1969, citado em *Diagnóstica Labtest, Sistemas para Diagnóstico*, edição fev. 1997.

Vaisse C, Halaas JL, Horvath CM, Darnell JE Jr, Stoffel M, and Friedman JM. Leptin activation of Stat3 in the hypothalamus of wild-type and ob/ob mice but not db/db mice. *Nat Genet*. 1996;14: 95–97.

Van Der Vusse GJ, Reneman RS. Lipid metabolism in muscle. In: *Handbook of Physiology. Exercise: Regulation and Integration of Multiple Systems*. Bethesda, MD: Am. Physiol. Soc., 1996; 12(21):952-94.

Vasankari TJ, Kujala UM, Vasankari TM, Ahotupa M. Reduced oxidized LDL levels after a 10-month exercise program. *Med. Sci. Sports Exerc*. 1998; 30(10):1496-1501.

Van Harmelen F, Reynisdottir S, Eriksson P, Thörne A, Hoffstedt J, Lönnqvist F, Arner P. Leptin secretion from subcutaneous and visceral adipose tissue in women. *Diabetes*. 1998; 47:913-917.

Velloso LA. The hypothalamic control of feeding and thermogenesis: implications on the development of obesity. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2006; 50(2):165-76.

Voltarelli FA, Gobatto CA, de Mello MAR. Determination of anaerobic threshold in rats using the lactate minimum test. *Braz J. Med Biol Res*. 2002; 35(11):1389–1394.

Perlemuter G, Bigorgne A, Cassard-Doulcier AM, Naveau S. Nonalcoholic fatty liver disease: from pathogenesis to patient care. *Nature Clinical Practice: Endocrinology & Metabolism*. 2007; 3(6):458-469.

Vulin AI, Stanley FM. A forkhead/winged helix-related transcription factor mediates insulin-increased plasminogen activator inhibitor-1 gene transcription. *J Biol Chem.* 2002; 277:2069-2076.

Xu AW, Kaelin CB, Takeda K, Akira S, Schwartz MW, Barsh GS. PI3K integrates the action of insulin and leptin on hypothalamic neurons. *J Clin Invest.* 2005;115:951-8.

Wabitsch M, Jensen PB, Blum WF, Christoffersen CT, Englaro P, Heinze E, et al. Insulin and cortisol promote leptin production in cultured human fat cells. *Diabetes.* 1996; 45:1435-8.

Wajchenberg BL. Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome. *Endocr Rev.* 2000; 21:697-738.

Wang HJ, Geller F, Dempfle A, Schauble N, Friedel S, Lichtner P, et al. Ghrelin receptor gene: identification of several sequence variants in extremely obese children and adolescents, healthy normal-weight and underweight students, and children with short normal stature. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004; 89: 157–162.

Wang J, Liu R, Liu L, Chowdhury R, Barzilai N, Tan J, Rossetti L. The effect of leptin on *Lep* expression in tissue-specific and nutritionally regulated. *Nat Med.* 1999; 5:895-899.

West DB, York B. Dietary fat, genetic predisposition, and obesity: lessons from animal models. *Am J Clin Nutr.* 1998 Mar;67(3):505S-512S

Westgard JO, Barry PL, Hunt MR, Groth T. Groth T. A multi-rule Shewhart chart for quality control in clinical chemistry. *Clin Chem.* 1981;27; 493-501.

Westerterp KR. Diet-induced thermogenesis. *Nutr Metab (Lond).* 2004; 1(5):1–5.

Whitehead JR. *Sports Medicine Bulletin.* 2002; 37(6): p5-6.

Wilsey J, Zolotukhin S, Prima V, Scarpace PJ. Central leptin genes therapy fails to overcome leptin resistance associated with diet-induced obesity. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2003; 285:R1011-R1020.

Wolfe RR, Klein S, Carraro F, Weber JM. Role of triglyceride-fatty acid cycle in controlling fat metabolism in humans during and after exercise. *Am. J. Physiol.* 1990; 258 (21): 382-89.

Zabeau L, Lavens D, Peelman F, Eyckerman S, Vandekerckhove J, Tavernier J. The ins and outs of leptin receptor activation. *FEBS Lett* 2003;546:45-50.

Zhang Y, Proença R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature.* 1994; 372:425-32.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)