

FABRICIO CESAR DE PAULA RAVAGNANI

**ÁREA DE ADIPÓCITOS E PARÂMETROS BIOQUÍMICOS DE RATOS
SUBMETIDOS À DIETA HIPERLIPÍDICA E EXERCÍCIO AERÓBIO**

CAMPO GRANDE/MS

2011

FABRICIO CESAR DE PAULA RAVAGNANI

**ÁREA DE ADIPÓCITOS E PARÂMETROS BIOQUÍMICOS DE RATOS
SUBMETIDOS À DIETA HIPERLIPÍDICA E EXERCÍCIO AERÓBIO**

Tese apresentada ao programa de Pós-Graduação e Saúde Desenvolvimento na Região Centro-oeste da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, para obtenção do título de Doutor.

Orientador: Prof. Dr. Celso Massaschi Inouye

CAMPO GRANDE/MS

2011

FOLHA DE APROVAÇÃO

FABRICIO CESAR DE PAULA RAVAGNANI

**ÁREA DE ADIPÓCITOS E PARÂMETROS BIOQUÍMICOS DE RATOS
SUBMETIDOS À DIETA HIPERLIPÍDICA E EXERCÍCIO AERÓBIO**

Tese apresentada ao programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-oeste da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, para obtenção do título de Doutor.

Resultado _____.

Campo Grande, _____ de _____ de 2011.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Celso Massaschi Inouye
Universidade Federal do Mato Grosso do Sul- UFMS

Prof. Dr. Fabricio Azevedo Voltarelli
Universidade Federal do Mato Grosso – UFMT

Prof. Dr. José Antônio Braga Neto
Universidade Federal do Mato Grosso do Sul- UFMS

Prof. Dr. Alessandro Moura Zagatto
Universidade Federal do Mato Grosso do Sul- UFMS

Prof^a. Dr^a. Priscila Aiko Hiane
Universidade Federal do Mato Grosso do Sul- UFMS

DEDICATÓRIA

A minha querida esposa,

Christianne de F. C. Ravagnani que, com paciência, amor e dedicação, nunca deixou de me incentivar. Doou o seu tempo em prol do meu tempo, compreendeu as minhas dificuldades, entendeu a minha ausência, não só física, como espiritual, em alguns momentos. Com uma companheira como essa, passo por qualquer obstáculo, pois, tenho muita sorte de conviver com ela todos os dias.

Meus filhos,

Fabrizio e Enzo pelo simples fato de existirem.

Aos meus pais e irmã,

Alcides Ravagnani Filho, Therezinha Jesus Paula e Andréa Fernanda Ravagnani, pelo apoio e compreensão nas horas difíceis e estressantes.

Meu sogro e minha sogra,

Sr Magno M. Coelho Filho e Sr(a) Regina M. F. Coelho que, com muito carinho sempre me incentivaram a buscar meus sonhos,

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao meu orientador,

Prof. Dr. Celso Massaschi Inouye da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul (UFMS), pela oportunidade de orientação concedida e confiança depositada, mesmo tendo a consciência das dificuldades que iria enfrentar. Por ser um interlocutor disposto a oferecer estímulos nas horas pertinentes e ouvir com interesse e ânimo todas as questões, dúvidas e problemas que surgiam durante o processo. Pela confiança depositada em vários momentos e principalmente, pela compreensão silenciosa dos momentos difíceis pelos quais passei, permitindo que meu tempo interno fluísse respeitosamente. Para finalizar, sua conduta profissional exemplar, tanto, no exercício da medicina, como nas práticas acadêmicas, ensinou-me o verdadeiro significado da ciência em prol da humanidade, fazendo disto, um orgulho para mim ter sido seu orientando.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao meu coorientador,

Prof. Dr. Fabricio Azevedo Voltarelli da Faculdade de Educação Física (FEF) da Universidade Federal do Mato Grosso (UFMT), pelo seu tempo dedicado e pelas suas contribuições significativas, tantos nas coletas como nas correções e análises dos dados. Pela paciência e compreensão nos momentos deliciosos, fazendo da sua orientação um momento agradável e ao mesmo tempo produtivo. Pelos conselhos pessoais e profissionais extremamente pertinentes para produção do trabalho e pelo exemplo de dedicação à ciência. E para finalizar, pela grande amizade que construímos e cultivamos no decorrer deste período.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Mato Grosso do Sul (UFMS), principalmente a Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação (PROPP), pela oportunidade de crescimento intelectual, acadêmico e pelo apoio financeiro que contribuiu significativamente para finalização deste trabalho.

Ao programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul (UFMS), pelo apoio efetivo na realização deste trabalho, tanto financeiro como intelectual, pois através de seus professores e funcionários, pude construir uma nova pagina na minha história de vida.

À Fundação de Apoio e Desenvolvimento de Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado do Mato Grosso do Sul (Fundect) pelo suporte financeiro, pois isto viabilizou o desenvolvimento dessa pesquisa.

Ao Prof. Dr. Ricardo Dutra Aydos coordenador de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul (UFMS), pelo apoio e pela contribuição intelectual para construção desse trabalho. Pela paciência e compreensão nos momentos de conflito acadêmicos em que tivemos, pois estas qualidades foram de extrema importância para que eu pudesse terminar todas as etapas do meu doutorado com imensa satisfação.

Prof^a. Ms. Mariana de Oliveira ex-aluna do programa de mestrado em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul (UFMS), pela parceria oportuna e brilhante que tivemos em todo o processo de execução desse trabalho. Pelos momentos difíceis e alegres pelo qual passamos durante o desenvolvimento do trabalho “seu mestrado e meu doutorado”. Para finalizar, pela amizade sincera que no decorrer desse período cultivamos. Obrigado!

Ao Prof. Dr. José Antônio Braga Neto do Departamento de Tecnologia de Alimentos (DTA), da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul (UFMS), pelas correções e sugestões extremamente pertinentes e oportunas, tanto para minha parceira de trabalho Mariana como para mim. Pelo aceite em participar da minha banca de qualificação e agora defesa e não menos importante, pela contribuição técnica despendida, principalmente na confecção “construção” das rações utilizadas no nosso estudo. Destaco que sem a sua participação tudo ficaria mais difícil.

À Prof^a Dr^a Christianne de Faria Coelho da Universidade Federal do Mato Grosso (UFMT), do departamento de Educação Física, pela parceria interinstitucional que tivemos e principalmente pelas correções, sugestões e incentivo que me foi dado durante todo o processo desse trabalho. Nesse período, essa professora teve a capacidade de transformar as minhas dúvidas em aprendizado e as minhas dificuldades em metas. O que seria de mim sem essa parceira? Muito Obrigado!

Ao Prof. Dr. Luiz Fabrizio Stoppiglia da Universidade Federal do Mato Grosso (UFMT), do departamento de Nutrição que, com enorme simplicidade, clareza e

eficiência executou a maioria dos procedimentos bioquímicos, sem os quais, não seria possível a realização desse trabalho.

Ao Prof. Dr. Alessandro Moura Zagatto da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul (UFMS), do departamento de Educação física, pelo apoio na banca de qualificação, fazendo-se presente na apresentação e por ter aceitado participar como membro da banca de defesa desse trabalho.

Ao Prof^a. Dr^a. Priscila Aiko Hiane da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul (UFMS), pela orientação concedida a minha parceira Mariana de Oliveira que teve participação efetiva nesse trabalho, pelo aceite e apoio na qualificação do meu trabalho, fazendo-se presente no dia da apresentação e principalmente pela oportunidade de estar agora entre os membros da banca de defesa desse trabalho.

Ao Dr Maçanori Odashiro da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul (UFMS), pela eficiência e dedicação com que realizou as análises histopatológicas desse estudo.

Ao Prof. Dr. Carlos Alexandre Fett da Universidade Federal do Mato Grosso (UFMT), da Faculdade de Educação Física (FEF), pelo apoio e auxílios técnicos e metodológicos prestados na execução desse trabalho.

Ao Prof. Dr Arturo Alejandro Zavala do departamento de Economia da Universidade Federal do Mato Grosso (UFMT), pela contribuição e dedicação na análise estatística do presente trabalho.

À Prof^a. Dr^a. Maria de Fatima Cepa Matos da Universidade federal do Mato Grosso do Sul (UFMS), pela confiança depositada, principalmente no que se refere ao empréstimo de equipamentos em pleno carnaval, pois sem isso, não poderia ter concluído a coleta dos resultados desse trabalho no período correto.

Ao Prof. Ms. Bruno Elias ex-aluno do programa de mestrado em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul (UFMS), e a professora Erika Alves Morel, ex-aluna da graduação do curso de Educação Física da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul (UFMS), pelo tempo dedicado aos trabalhos técnicos desse trabalho como “manipulação e desenvolvimento do protocolo de exercício físico dos animais” e também na coleta do material para análise.

À Professora Ms. Maisa Pavani do departamento de química da Universidade Federal do Mato Grosso (UFMT), pela parceria na análise dos ácidos graxos do estudo.

A Vera Nascimento, Julio Cesar e Maiquele Lopes da secretária do programa de Pós-Graduação em Saúde e desenvolvimento na Região centro-oeste da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul (UFMS), pela atenção, cordialidade e agilidade que sempre me atenderam.

Aos funcionários do Biotério Central da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, pela competência, atenção e cordialidade que sempre me atenderam.

À todos os professores e funcionários do Departamento de Tecnologia de Alimentos (DTA), da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul (UFMS), pela acolhida sincera e apoio técnico no desenvolvimento das rações do estudo e análises.

À Darli Castro Costa técnica do Departamento de Tecnologia de Alimentos (DTA), da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul (UFMS), pela sua competência técnica, pois realizou o procedimento de confecção das lâminas para verificar o diâmetro das células adiposas de forma competente e segura.

E a todos que não mencionei, mas que estiveram presentes de alguma forma nessa jornada e que com certeza foram importantes em algum momento.

“Somos as únicas criaturas na face da terra capazes de mudar nossa biologia pelo que pensamos e sentimos.....Nossas células estão constantemente processando as experiências e metabolizando-as de acordo com nossos pontos de vista pessoais”.

(Chopra)

RESUMO

Ravagnani FCP. Área de adipócitos e parâmetros bioquímicos de ratos submetidos à dieta hiperlipídica e exercício aeróbico. Campo Grande; 2011. [Tese de doutorado- Programa de Pós-graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul].

Objetivo: Estudar os efeitos de dietas ricas em lipídios (chocolate e baru) e do exercício aeróbico sobre os diferentes depósitos adiposos e substratos teciduais de ratos Wistar. **Métodos:** Após o desmame, os animais, com exceção dos controles (dieta NUVILAB[®]; 3,48kcal/g), foram alimentados com dieta à base de chocolate (4,17kcal/g) por 2 meses para indução da obesidade. Feito isso, os animais foram distribuídos em 6 grupos: controle sedentários (CS), controle exercitados (CE), baru sedentários (BS), baru exercitados (BE), chocolate sedentários (CHOS), chocolate exercitados (CHOE), de acordo com a introdução da dieta com extrato de baru e treinamento de natação (2% do PC; 8 sem., 5x/semana, 1h/sessão). O ganho de peso e consumo alimentar dos animais foram registrados semanalmente. Após a morte dos animais, foram determinados: ácidos graxos livres no soro (AGLser) e o conteúdo de triglicerídeos e glicogênio muscular e hepático (TGL_{musc}, TGL_{hep}, GLIC_{musc}, GLIC_{hep}). Os tecidos adiposos retroperitoneal, inguinal e omental foram removidos, pesados e submetidos à análise histológica e área de adipócitos. **Resultados:** O ganho de peso corporal induzido pelas dietas hiperlipídicas/hipercalóricas foi atenuado pelo exercício físico (BS 71,14±20,71 > BE 37,14±21,11; CHOS 54,94±18,70 > CHOE 22,30±17,14). As dietas hipercalóricas/hiperlipídicas aumentaram o peso e a área de células do tecido retroperitoneal em relação à dieta controle (P<0,05). O exercício reduziu a área de células do tecido omental (CHOE: 6.370,91±7.776,13 < CHOS: 7.341,28±5.862,24µm²) e inguinal (CHOE: 5.147,49±5.712,71<CHOS: 7.083,11±7.682,40µm²) do grupo chocolate e inguinal do controle (CE: 2.212,87 ± 1.920,34< CS: 3.386,11 ± 3.973,09µm²). A prevalência de esteatose foi maior nos grupos de animais sedentários alimentados com dieta hiperlipídica/hipercalórica em comparação aos controles (CHOS: 83% > BS: 80% > CS: 50%). Os animais exercitados apresentaram menor conteúdo de triglicerídeos hepáticos do que seus pares sedentários, mesmo na persistência das dietas hiperlipídicas (BS: 1,36±0,50 > BE: 0,88±0,43mg.100mg⁻¹; CHOS: 1,77±0,64 > CHOE: 0,86±0,41mg.100mg⁻¹). A dieta hipercalórica/hiperlipídica à base de baru promoveu maior deposição de triglicerídeos no músculo (P<0,05), em ambos, animais sedentários e exercitados, comparados aos controles. **Conclusão:** O treinamento físico em intensidade leve à moderada preveniu o acúmulo de peso e de TGL_{hep} nos ratos alimentados com dietas hiperlipídicas/hipercalóricas. Os tecidos abdominais foram mais sensíveis às dietas hiperlipídicas comparados ao subcutâneo periférico. Por outro lado, os efeitos do exercício foram mais pronunciados nos depósitos adiposos visceral e inguinal.

Palavras-chave: treinamento físico, dieta hiperlipídica, área de adipócitos

ABSTRACT

Objective: To study the effects of hypercaloric/hyperlipidic diets (chocolate and baru) associated to aerobic exercise on different fat depots as well as on substrates tissue of Wistar rats. **Methods:** After weaning, the animals, except the controls (NUVILAB® diet: 3.48kcal/g), were fed with a chocolate diet (4.17 kcal/g) during 2 months in order to induce obesity. After this period the animals were distributed into 6 groups: Sedentary Control (SC); Trained Control (TC); Sedentary Baru (SB); Trained Baru (TB); Sedentary Chocolate (SCho) and Trained Chocolate (TCho), according to the introduction of baru extract diet as well as of swimming training (supporting overload equivalent to 2% of body weight, during 8 wk, 5d/wk, and 1h/session). Body weight and food intake were recorded weekly. After the death of the animals, serum free fatty acids (FFA), hepatic and muscular triglycerides and glycogen (TGL_{musc} , TGL_{hep} , $GLIC_{musc}$, $GLIC_{hep}$) content were determined. The retroperitoneal (RET), inguinal (IN), and omental (OM) fat tissues were excised, weighted, and submitted to histological and adipocyte area evaluation. **Results:** The weight gain induced by hypercaloric/hyperlipidic diets was attenuated by exercise (SB 71.14 ± 20.71 > TB 37.14 ± 21.11 ; SCHO 54.94 ± 18.70 > TCHO 22.30 ± 17.14). The hypercaloric/hyperlipidic diet increased weight and cell areas of RET if compared to control diet ($P < 0.05$). The physical training decreased the OM (TCho: $6,370.91 \pm 7,776.13$ < SCho: $7,341.28 \pm 2.24 \mu m^2$) and IN (TCho: $5,147.49 \pm 5,712.71$ < SCho: $7,083.11 \pm 7,682.40 \mu m^2$) cell areas of chocolate group as well as IN cell areas of TC (TE: $2,212.87 \pm 1,920.34$ < SC: $3,386.11 \pm 3,973.09 \mu m^2$). The prevalence of hepatic steatosis was higher in sedentary rats fed with hypercaloric/hyperlipidic if compared to control group (CHOS:83%>BS:80%> CS:50%). The trained animals showed lower TGL_{hep} content in relation to sedentary rats under continuous hypercaloric/hyperlipidic diets (SB: 1.36 ± 0.50 > TB: $0.88 \pm 0.43 mg.100mg^{-1}$; SCho: 1.77 ± 0.64 > TCho: $0.86 \pm 0.41 mg.100mg^{-1}$). The hypercaloric/hyperlipidic baru diet induced TG_{musc} deposition ($p < 0.05$), in both, sedentary and trained rats, compared to controls. **Conclusion:** Light to moderate physical training prevented weight and TGL_{hep} accumulation in rats fed with hypercaloric/hyperlipidic diet. Abdominal tissues were more sensitive to hyperlipidic diet compared to peripheral subcutaneous fat tissue. On the other hand, the effects of exercise were more pronounced in visceral and inguinal fat depots.

Key-words: physical training, hyperlipidic diet, adipocyte area

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Ingestão energética (kcal/dia) dos animais sedentários (S) e exercitados (E) alimentados com dieta baru (B), chocolate (CHO) e controle (C).....	59
Tabela 2- Evolução do peso corporal dos animais dos animais sedentários (S) e exercitados (E) alimentados com dieta baru (B), chocolate (CHO) e controle (C) durante o estudo.....	60
Tabela 3- Peso dos tecidos omental, retroperitoneal e inguinal dos animais sedentários (S) e exercitados (E) alimentados com dieta baru (B), chocolate (CHO) e controle (C).....	60
Tabela 4- Área de adipócitos dos tecidos omental, retroperitoneal e inguinal dos animais sedentários (S) e exercitados (E) alimentados com dieta baru (B), chocolate (CHO) e controle (C).....	61
Tabela 5- Glicogênio muscular e hepático, Triglicerídeos (TGL) muscular e hepático dos animais sedentários (S) e exercitados (E) alimentados com dieta baru (B), chocolate (CHO) e controle (C). Valores expressos em mg/100mg.....	62
Tabela 6- Ácidos graxos livres dos animais sedentários (S) e exercitados (E) alimentados com dieta baru (B), chocolate (CHO) e controle (C) expresso em mg/100mg.	62
Tabela 7- Presença de esteatose hepática nos animais sedentários (S) e exercitados (E), alimentados com dieta baru (B), chocolate (CHO) e controle (C).....	63
Tabela 8- Intensidade da esteatose hepática nos animais sedentários (S) e exercitados (E), alimentados com dieta baru (B), chocolate (CHO) e controle (C).....	64

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Principais moléculas liberadas pelos adipócitos ou macrófagos do tecido adiposo.....	25
Figura 2- Fisiopatologia da doença cardiovascular aterosclerótica na obesidade e síndrome metabólica (SM).....	26
Figura 3- Principais depósitos de gordura no ser humano e nos ratos.....	28
Figura 4- Principais características do tecido adiposo visceral (TAV) em comparação ao subcutâneo (TAS).....	31
Figura 5- Recomendações atuais para atividade física ou exercícios físicos preventivos e terapêuticos.....	37
Figura 6- Produtos e subprodutos do baru e respectivo uso.....	41
Figura 7- Composição centesimal aproximada da semente de baru.....	42
Figura 8- Animais na gaiola do experimento.....	45
Figura 9- Gaiolas coletivas para os ratos utilizados no experimento.....	45
Figura 10- Desenho experimental do estudo.....	47
Figura 11- Fluxograma para obtenção do extrato de baru utilizado como ingrediente de ração/dieta para os ratos estudados.	48
Figura 12- Composição centesimal das dietas experimentais elaboradas para ratos do Grupo Baru, Grupo Chocolate e Controle expressa na base úmida, em g/100g.	49
Figura 13- Proporção de ácidos graxos dos alimentos fontes de lipídeos, adicionados às dietas chocolate e baru.....	50
Figura 14- Perfil de ácidos graxos das dietas chocolates e baru.....	50
Figura 15- Animal executando o protocolo de natação.....	51
Figura 16- Esquema de treinamento utilizado no estudo.....	52
Figura 17- Animais controles no mesmo ambiente.....	52
Figura 18- Animais exercitados no secador.....	52

Figura 19- Avaliação do peso corporal dos animais.....	53
Figura 20- Cirurgia: Corte medial no animal para retirada dos tecidos.....	54
Figura 21- Coleta de sangue através da punção cardíaca.....	54
Figura 22- Sangue sendo centrifugado.	54
Figura 23- Momento da identificação dos tecidos adiposos.	56
Figura 24- Tecido removido e colocado em solução salina.....	57
Figura 25- Tecido colocado em estufa.....	57
Figura 26- Lâminas para análise da área de adipócitos.....	57
Figura 27- Célula adiposa visualizada em microscópio.....	57
Figura 28- Análise histopatologica do fígado.....	64

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

AGL	Ácidos graxos livres
ASP	Proteína estimulante de acilação
DCV	Doenças cardiovasculares
DEXA	Absorciometria de feixe duplo
DTA	Departamento de Tecnologia de Alimentos
EHNA	Esteatose hepática não alcoólica
EPOC	Consumo de oxigênio pós atividade
FEF	Faculdade de Educação Física
GLUT-4	Transportadores de glicose
HDL-c	Lipoproteína de alta densidade
ICAM-1	Molécula de aderência
IGF-1	Fator de crescimento semelhante à insulina
IL-6	Interleucina 6
KOH	Hidróxido de potássio
LDL-c	Lipoproteína de baixa densidade
LPL	Enzima lípase lipoprotéica
Na ₂ SO ₄	Sulfato de sódio
NO	Oxido nítrico
PAI-1	Inibidor do ativador do plasminogênio
PAI-1	Inibidor do ativador de plasminogênio
PC	Peso corporal

PCR	Proteína C reativa
PE	Éter de petróleo
PPAR- γ	Receptor ativado por proliferadores de peroxissoma
PROPP	Pró-reitoria de Pesquisa e Pós-graduação
RBP-4	Proteína ligadora do retinol
SM	Síndrome Metabólica
TAS	Tecido adiposo subcutâneo
TAV	Tecido adiposo visceral
TG	Triglicerídeos
TGIM	Conteúdo intramiofibrilar de triglicerídeos
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
UFMS	Universidade Federal do Mato Grosso do Sul
UFMT	Universidade Federal do Mato Grosso
VLDL	Lipoproteína de muito baixa densidade
VO _{2máx}	Consumo máximo de oxigênio

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL.....	21
2 REVISÃO GERAL DA LITERATURA.....	23
2.1 Obesidade e distribuição da gordura corporal: mecanismos fisiopatogênicos da síndrome metabólica.....	23
2.1.1 Adiposidade abdominal.....	28
2.1.2 Adiposidade intramuscular.....	31
2.1.3 Gordura hepática.....	32
2.2 Exercício físico no controle da síndrome metabólica.....	34
2.3 Ácidos graxos dietéticos no controle da síndrome metabólica.....	38
2.4 O Barú (<i>Dipteryx alata</i> Vog).....	41
3 OBJETIVOS.....	44
3.1 Objetivo geral.....	44
3.1.1 Objetivo específicos.....	44
4 METODOLOGIA.....	45
4.1 Preceitos éticos.....	45
4.2 Amostra.....	45
4.3 Delineamento experimental.....	45
4.4 Dietas experimentais.....	47
4.5 Programa de treinamento físico aeróbio.....	50
4.6 Avaliações morfológicas e fisiológicas.....	52
4.6.1 Peso.....	52

4.6.2 Consumo alimentar.....	53
4.7 Determinação bioquímica e dos substratos teciduais.....	53
4.7.1 Avaliação sérica de ácidos graxos livres (AGL).....	54
4.7.2 Triglicerídeos musculares e hepáticos.....	55
4.7.3 Glicogênio muscular e hepático.....	55
4.8 Avaliação dos depósitos adiposos e medidas da área de células adiposas....	55
4.9 Análise histológica do fígado.....	57
4.10 Análise estatística.....	57
5 RESULTADOS.....	59
6 DISCUSSÃO.....	65
CONCLUSÕES.....	77
REFERÊNCIAS.....	78
ANEXOS.....	87

1 INTRODUÇÃO GERAL

Estudos epidemiológicos indicam que a obesidade aumenta o risco de doença cardiovascular e diversos tipos de câncer (CALLE; KAAKS, 2004; CARVALHEIRA; SAAD, 2006). De acordo com a (SBH) Sociedade Brasileira de Hipertensão, (2005) indivíduos obesos apresentam, com frequência, dislipidemia, resistência à insulina e hipertensão arterial sistêmica, condições que, em conjunto, caracterizam a síndrome metabólica.

A distribuição regional da gordura corporal parece ter um papel importante na gênese da síndrome metabólica. Evidências clínicas apontam a obesidade abdominal, particularmente a abdominal visceral, como a mais deletéria à saúde humana (SILVA et al., 2006), embora a adiposidade subcutânea também esteja associada a anormalidades metabólicas (WAJCHENBERG, 2000). Os triglicerídeos intramusculares constituem outro depósito adiposo que se associa à resistência insulínica (DAVID et al, 2000; HERMSDORFF; MONTEIRO, 2004).

Assim, pelo impacto negativo à saúde, a prevenção ou a redução da obesidade e síndrome metabólica na população é meta da maioria das políticas públicas de saúde, tanto nos países desenvolvidos quanto nos em desenvolvimento. A prática de exercícios físicos e a alimentação saudável são consideradas coadjuvantes importantes nas atenções primária e secundária desses agravos (BRASIL, 2002; BRASIL, 2004).

A inclusão de alimentos com alegação funcional na dieta é uma tendência que tem gerado crescimento na comercialização desses produtos, bem como despertado a curiosidade da indústria farmacêutica. Particularmente nos países em desenvolvimento, o uso terapêutico de plantas e frutos nativos é comum, apesar de pouco conhecido do ponto de vista científico (MORAES; COLLA, 2006; IKEDA, 2010).

O baru (*Dipteryx Alata* Vog.) é um fruto de ocorrência abundante no cerrado brasileiro (LORENZI, 2002). Relatos isolados, baseados na medicina caseira, sugerem que o óleo extraído da amêndoa tem ação anti-reumática e apresenta propriedades sudoríferas, tônicas e reguladoras da menstruação (SANO et al., 2004). Essas características do alimento transferem para o mesmo um grande potencial para sua utilização nas indústrias alimentícia e farmacêutica.

A amêndoa é rica em ácidos graxos insaturados (78,5% do total dos lipídios, 44,5% de ácido oléico e 31,7% de ácido linoléico) e α -tocoferol (5mg/100g) (TAKEMOTO *et al.*, 2001). Essa composição química desperta a possibilidade para a pesquisa clínica, já que a utilização de gorduras mono e poliinsaturadas, fibras e nutrientes antioxidantes faz parte da conduta nutricional indicada pela SBH (2005) e (SBC) Sociedade Brasileira de Cardiologia, (2007).

No que diz respeito aos exercícios físicos, particularmente os aeróbios, sabe-se que os mesmos estão associados à redução da intolerância à glicose e ao aumento da sensibilidade insulínica, aumento da lipoproteína de alta densidade (HDL-c), redução da lipoproteína de baixa densidade (LDL-c), redução da pressão arterial sistólica e diastólica em repouso, redução do percentual de gordura, manutenção da massa corporal magra, bem como aumentos do metabolismo basal, do gasto energético e da capacidade cardiovascular (CIOLAC; GUIMARÃES, 2004).

Embora os exercícios promovam alterações favoráveis sobre a composição corporal (CIOLAC; GUIMARÃES, 2004), são escassos os estudos que mostram os efeitos do exercício em diferentes estoques corporais de gordura (ex. gordura abdominal e subcutânea), nem tampouco que comprovam alegações funcionais do baru, evidenciando, assim, a necessidade de pesquisas nesse tema.

Acredita-se que a incorporação de conhecimento científico ao baru poderá gerar crescimento do consumo e contribuir para o desenvolvimento regional, já que a comercialização do fruto é usada pelos trabalhadores rurais do Cerrado (incluindo o Mato Grosso do Sul e Mato Grosso), como fonte de renda familiar (KISS *et al.*, 2006; CEPPEC, 2008).

Em função dos aspectos supracitados, considerou-se pertinente o desenvolvimento do estudo experimental com ratos, o qual teve a finalidade de estudar os efeitos da dieta com extrato de baru e chocolate associada ao exercício aeróbio sobre os diferentes depósitos adiposos e substratos teciduais de ratos Wistar.

2 REVISÃO GERAL DA LITERATURA

2.1 Obesidade e distribuição da gordura corporal: mecanismos fisiopatogênicos da síndrome metabólica.

A etiologia da obesidade é complexa e envolve mecanismos neurais, endócrinos, bioquímicos, celulares e moleculares que se comportam de maneira diferenciada, dadas as diversidades biológica e genética entre indivíduos e o ambiente que os cercam (PINHEIRO et al. 2004).

O circuito cerebral que controla o apetite, a produção e secreção de hormônios, a expressão de proteínas reguladoras do peso corporal bem como os genes responsáveis pelo excesso de peso caracterizam-se por serem alvos importantes de pesquisas científicas (KATER, 2000).

O conhecimento dos fatores responsáveis pela instalação da obesidade é fundamental para a criação de terapias eficazes e viáveis, pois o excesso de adiposidade corporal constitui-se num grande problema de saúde pública, devido ao fato de estar associado à morbidade e mortalidade por doenças cardiovasculares e diversas outras causas (BRASIL, 2004).

O presente trabalho não pretende descrever exaustivamente os mecanismos etiopatogênicos da obesidade, mas sim àqueles associados à síndrome metabólica. Inúmeras pesquisas tentam elucidar a fisiopatologia da obesidade, mas pode-se afirmar que ainda há muito o que descobrir. No que se refere aos distúrbios metabólicos, a obesidade parece exercer um papel central na síndrome metabólica (YOU et al., 2008).

No nível endócrino, o tecido adiposo anteriormente considerado “inerte”, é tido hoje como o tecido mais versátil, pois é responsável pela produção de várias substâncias, tais como angiotensina II, inibidor do ativador de plasminogênio (PAI-1), fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), interleucina 6 (IL-6), adiponectina, precursores esteróides, estrógenos, fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1), adipina e leptina (HERMSDORFF; MONTEIRO, 2004).

O tecido adiposo produz e secreta inúmeras citocinas, ou adipocinas, comumente presentes na síndrome metabólica (SM) e que contribuem para o estado pró-inflamatório, este caracterizado pela alta circulação de IL-6, TNF- α e proteína C reativa (PCR) e pelo estado pró-trombótico, evidenciado pelo PAI-1

(HERMSDORFF; MONTEIRO, 2004; YOU et al., 2008). Evidências indicam que a medida que aumenta o grau de obesidade, aumenta também a infiltração dos macrófagos no tecido adiposo, o qual corresponde às maiores fontes de citocinas pró-inflamatórias (WEISS, 2007). Esses compostos protéicos e não protéicos agem no próprio local de produção, ou seja, nos próprios adipócitos e em outros tecidos do organismo, modulando o comportamento funcional desses tecidos (HERMSDORFF; MONTEIRO, 2004).

A figura 1 apresenta diversos fatores protéicos e não protéicos que podem ser secretados pelo tecido adiposo branco, bem como seus principais efeitos biológicos (ALANIZ et al., 2007).

As citocinas parecem ser a ligação entre a obesidade e os outros componentes da síndrome metabólica (hipertensão arterial, altos níveis de triglicerídeos e glicose no plasma e baixos níveis de HDL-c). O TNF- α , por exemplo, além de participar da resposta imunológica, também está envolvido na gênese da resistência à insulina, por inibir a fosforilação de receptores de insulina nas células. Níveis elevados de TNF- α são encontrados em roedores e humanos obesos (BARROSO et al., 2002). Já a relação entre adiposidade e dislipidemias poderia ser proveniente do fluxo aumentado de ácidos graxos da periferia para o fígado que estimula a produção hepática de triglicerídios, por sua vez, secreta VLDL rica em triglicerídios (TG). Por apresentar alta atividade lipolítica e menor sensibilidade ao estímulo anti-lipolítico da insulina, a gordura visceral libera grande quantidade de ácidos graxos livres na veia porta hepática (SILVA et al., 2006). No entanto, os estudos atuais sugerem que o aumento dos TG sanguíneos na síndrome metabólica tem causa multifatorial, além desta supracitada (REILLY; RADER, 2003).

O baixo HDL-c é frequentemente descrito como secundário ao aumento dos triglicerídeos devido, pelo menos em parte, à transferência dos triglicerídeos para o HDL-c. No entanto, não é incomum observar sujeitos que apresentem baixas concentrações de HDL-c mesmo na presença de níveis normais de triglicerídeos no plasma. Um possível contribuinte para a redução do HDL-c é o processo inflamatório. Nesta condição, podem ocorrer aumentos tanto da produção como da atividade de lipases que agem retirando os fosfolipídeos necessários à síntese de HDL, o que promoveria seu catabolismo (REILLY; RADER, 2003).

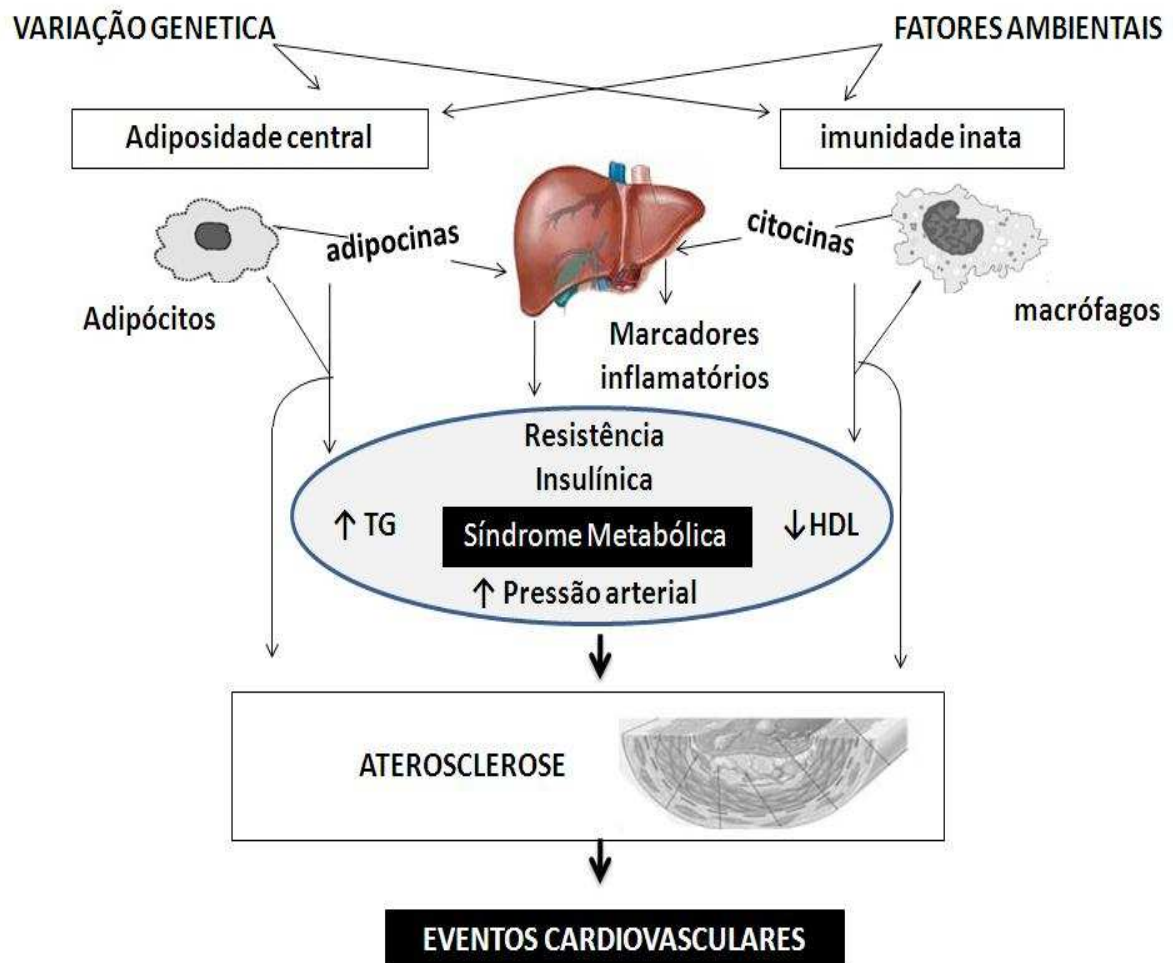
Adipocinas	Sítios de Ação	Função
Leptina	Hipotálamo	Reduz apetite, aumenta o metabolismo
	Sistema Imune	Mantém o sistema imune regulado
	Sistema cardiovascular	Efeito antiinflamatório
	Sistema endócrino	Regula puberdade e reprodução
	Músculo	Aumenta sensibilidade à insulina
Adiponectina	Sistema Imune	Reduz liberação de moléculas inflamatórias
	Sistema cardiovascular	Efeito antiaterosclerótico
	Fígado	Reduz gliconeogênese e aumenta o metabolismo de ácidos graxos
	Músculo	Aumenta oxidação de ácidos graxos, captação de glicose e produção de lactato
Resistina	Sistema Imune	Estimula a inflamação
	Sistema cardiovascular	Reduz relaxamento vascular
Proteína ligadora do Retinol (RBP)	Plasma	Transporta vitamina A
	Músculo	Reduz sinalização insulínica
Fator de Necrose Tumoral (TNF-α)	Músculo	Reduz sinalização insulínica
Visfatina	Músculo	Se liga à receptores insulínicos mimetizando a ação da insulina
	Sistema Imune	Causa liberação de TNF- α e interleucinas (inflamação)
Interleucina 6	Músculo	Reduz sinalização insulínica
Angiotensinogênio e Angiotensina II	Sistema vascular	Induz contração da musculatura lisa e aumenta a pressão arterial
	Tecido adiposo	Efeito pró-inflamatório
Ácidos graxos livres	Músculo	Promove resistência insulínica
	Fígado	Promove resistência insulínica

Adaptado de Wajchenberg (2000)

Figura 1- Principais moléculas liberadas pelos adipócitos ou macrófagos do tecido adiposo.

A relação entre obesidade e pressão arterial tornou-se mais forte, a partir da década de 90, com o registro de que a síntese de angiotensinogênio pelos adipócitos é proporcional à massa adiposa, fato que aumenta os seus níveis séricos e gera maior produção de angiotensina II, causando, concomitantemente, a elevação da pressão arterial, seja pelos efeitos diretos do peptídeo sobre o rim ou pela ativação simpática (BARROSO, 2002).

Em obesos, a inflamação mediada por $\text{TNF-}\alpha$ aumenta a produção e secreção de endotelina-1 bem como de angiotensinogênio, fato que reflete tanto na disfunção endotelial quanto na ocorrência de hipertensão arterial (BARROSO, 2002).



Adaptado de Reilly e Rader (2003).

Figura 2- Fisiopatologia da doença cardiovascular aterosclerótica na obesidade e síndrome metabólica (SM). A adiposidade central e a imunidade inata possuem um papel central no desenvolvimento da resistência insulínica, inflamação crônica e nos componentes da síndrome metabólica por meio das adipocinas e citocinas no fígado, músculo esquelético e células imunes. Além disso, os fatores derivados dos monócitos/macrófagos e adipócitos podem ter efeitos aterotrombóticos, os quais promovem o desenvolvimento dos eventos cardiovasculares.

O estresse oxidativo tem sido proposto como um potencial mecanismo patogênico o qual liga a obesidade e resistência insulínica à disfunção endotelial. No entanto, não se sabe o quanto a obesidade por si só, ou as condições associadas à ela, levam ao estresse oxidativo. A resistência insulínica induzida pelas citocinas (IL-6 e TNF- α), ácidos graxos e proteína ligadora do retinol 4 (RBP-4) pode ocasionar o estresse oxidativo e subsequente disfunção endotelial via PAI-1 e ICAM-1 (GAAL et al., 2006). A figura 2 ilustra a fisiopatologia da SM e da doença cardiovascular na obesidade.

Ressalta-se que o papel do tecido adiposo nas alterações metabólicas não se limita apenas à quantidade de massa adiposa. A expressão de genes nesse tecido também é um importante fator e mostra que a distribuição da gordura corporal, e não apenas a obesidade *per se*, é determinante para o perfil metabólico (WEISS, 2007).

O padrão de estoque dos lipídios interfere no perfil de secreção de adipocinas ou citocinas e no fluxo de ácidos graxos livres. Algumas citocinas, como a leptina, por exemplo, estão associadas principalmente à adiposidade geral, enquanto outras como a IL-6, angiotensina I, resistina, TNF- α , PAI-1 apresentam estrita ligação com a adiposidade abdominal visceral que, por sua vez, secreta menor quantidade de citocinas antiinflamatórias (ex. adiponectina) se comparadas ao tecido adiposo subcutâneo (YOU et al., 2008). Adipocinas, como o receptor ativado por proliferadores de peroxissoma (PPAR- γ) e a proteína estimulante de acilação (ASP), são expressas em maior quantidade no tecido adiposo subcutâneo, tanto abdominal como glúteo-femural, e agem estimulando a lipogênese (HERMSDORFF; MONTEIRO, 2004).

Baseado nessas informações, a compreensão do papel e perfil de secreção de substâncias por cada compartimento adiposo é fundamental no entendimento da fisiopatologia da obesidade e das suas formas de tratamento. A figura 3 mostra as principais diferenças entre o tecido adiposo visceral e o subcutâneo no que se refere à liberação de substâncias com atividades biológicas distintas.

O tecido adiposo apresenta distribuição generalizada no organismo, envolvendo-se, ou mesmo infiltrando-se, pela região subcutânea (ex. glúteo-femoral), por órgãos e vísceras ocas da cavidade abdominal e por diversos grupamentos musculares (FONSECA-ALANIZ et al., 2007). A participação desses depósitos na gênese da síndrome metabólica encontra-se descrita a seguir.

2.1.1 Adiposidade abdominal

De acordo com Wajchenberg (2000), muitos estudos prospectivos, realizados nas últimas décadas, mostraram que o excesso de gordura localizada na parte superior do corpo, considerado o padrão andróide ou a obesidade tipo maçã, apresentava-se mais frequentemente associado ao risco de mortalidade e desordens metabólicas do que o acúmulo periférico, do tipo pêra. Estes estudos, entretanto, utilizavam técnicas antropométricas, tais como circunferência da cintura e relação cintura quadril, para determinar a distribuição da gordura corporal.

Jensen (2008) sugere que os compartimentos adiposos sejam caracterizados como gordura inferior do corpo (ex. inguinal e glútea), gordura subcutânea na região superior (ex. braço, tronco e seio) e gordura abdominal visceral (depósito intra-abdominal omental e mesentérico). Uma das vantagens desta subdivisão, segundo o autor, é que os compartimentos podem ser medidos usando (DEXA) Absorciometria de Feixe Duplo, tomografia computadorizada e ressonância magnética. Os principais depósitos adiposos em humanos e ratos estão expressos na figura 3.

Depósitos	Humano	Rato	Tamanho aproximado no ser humano (kg)
Subcutâneo periférico	Ex. Bicipital, tricipital e glúteo-femural	Ex. Glútea e inguinal	1-15
Subcutâneo abdominal	Ex. Camada superficial do abdômem	Ex. Retroperitoneal	1-20
Abdominal visceral	Ex. Omental e mesentérico e perirenal	Ex. Omental e mesentérico e perirenal	0.5-3.0 0.5-2.0 0.5-2.0
Músculo	Ex. Triglicerídeos	Ex. Triglicerídeos	180-200 gramas

Adaptada de Frayn (2000)

Figura 3 - Principais depósitos de gordura no ser humano e nos ratos.

O avanço dessas técnicas de imagem para avaliação dos depósitos adiposos possibilitou distinguirmos o tecido adiposo das regiões mais profundas

(visceral) e subcutânea do abdômem, bem como a participação deles na gênese dos distúrbios metabólicos (WAJCHENBERG, 2000; JENSEN, 2008).

A gordura localizada na região superior do corpo é a maior fonte de ácidos graxos livres circulantes (AGL). Quando expresso em unidade de massa gorda, a lipólise de ácido graxo livre é aproximadamente 50% menor nos obesos se comparados aos indivíduos magros (KOUTSARI; JENSEN, 2006). Este fato pode ser atribuído, pelo menos em parte, à maior circulação de insulina, o que poderia prevenir um fluxo exacerbado de AGL provenientes dos estoques adiposos nos obesos (KOUTSARI; JENSEN, 2006).

Porém, quando expressa por quilo de tecido magro onde os AGL são principalmente consumidos, a lipólise (mmol/kg massa livre de gordura/min) passa a ser aproximadamente 60% superior nos obesos e ainda mais elevada nos obesos que apresentam adiposidade abdominal quando comparados aos com adiposidade periférica, sugerindo que existem diferenças na regulação da lipólise no tecido adiposo de indivíduos com diferentes fenótipos de obesidade (KOUTSARI; JENSEN, 2006).

De acordo com Koutsari e Jensen (2006), a gordura corporal da região superior do corpo (abdominal) é lipoliticamente mais ativa se comparada à inferior (pernas e glúteos), tanto em homens quanto em mulheres. Comparando a liberação de ácidos graxos (mmol/kg de gordura/min) nas duas regiões, esses mesmos autores encontraram para a região superior 41 e 53 mmol/kg de gordura/min e 18 e 27 mmol/kg de gordura/min na região inferior do corpo de mulheres e homens, respectivamente.

O tecido adiposo subcutâneo, localizado na região superior do corpo (não esplênica), é a maior fonte de ácidos graxos liberados na circulação em indivíduos obesos e magros e em condições de jejum e alimentação (JENSEN, 2008).

O excesso de ácidos graxos liberados por este tecido reduz a utilização de glicose no músculo e age como um potente estímulo para a produção hepática de glicose. Além disso, a elevada concentração de ácidos graxos no sangue potencializa, de forma aguda, a secreção da insulina estimulada pela glicose que, a longo prazo, produz efeito lipotóxico causado pelo contato dos ácidos graxos com as células beta pancreáticas, sendo esta a possível ligação entre o depósito subcutâneo abdominal e a resistência insulínica, além do diabetes tipo 2 (FRAYN, 2000; JENSEN, 2008).

A contribuição da lipólise visceral para o aumento sistêmico da oferta de AGL é mais limitada, correspondendo de 6 a 15% do total de AGL liberados. O fígado consome a maior parte dos AGL provenientes da região esplênica e, segundo Koutsari e Jensen (2006), pouco provavelmente este depósito adiposo visceral seja a causa de resistência insulínica nos tecidos extrahepáticos, embora pareça ser a principal causa de resistência insulínica nesse órgão.

A associação entre gordura visceral e resistência insulínica parece ser determinada por outros elementos, além do fluxo de AGL. O mecanismo mais provável, e já citado anteriormente (figura 2), refere-se à liberação das adipocinas. O depósito visceral de gordura produz e secreta maiores quantidades de IL-6 (JENSEN, 2008), TNF- α e PAI se comparado ao subcutâneo (HERMSDORFF; MONTEIRO, 2004).

A hipótese de que a gordura abdominal subcutânea apresenta correlação positiva tão forte quanto a visceral na redução da sensibilidade à ação da insulina parece aceitável (WAJCHENBERG, 2000). Porém, os mecanismos responsáveis por tal associação são distintos e precisam ser melhor esclarecidos.

Além disso, os efeitos metabólicos desfavoráveis advindos do excesso de lipídeos não são exclusivos do tecido adiposo. Tanto a biossíntese como o acúmulo de triglicerídeos ocorrem em outros tecidos, facilitando a formação de ceramidas, as quais ativam a enzima óxido nítrico sintase induzida (iNOS), com consequente formação de óxido nítrico (NO), e indução de apoptose, esta última por meio da ativação da proteína NF κ B22 (FONSECA-ALANIZ et al., 2007). Esse processo, denominado de lipotoxicidade, se manifesta na esteatose hepática e muscular, as quais associam-se diretamente à resistência insulínica e à síndrome metabólica, as quais serão discutidas a seguir.

A figura 4 mostra as principais diferenças entre o tecido adiposo abdominal, visceral e subcutâneo no que se refere à liberação de substâncias com atividades biológicas distintas.

Fatores bioquímicos	Diferenças regionais	Efeitos sobre o TAV
Resposta lipolítica às catecolaminas	TAV>TAS	Aumento dos ácidos graxos livres e turnover dos TG
Efeito antilipolítico da insulina	TAS>TAV	
Receptores de glicocorticóides	TAV>TAS	Aumenta LPL e estoque de TG
Secreção de leptina	TAS>TAV	Reduz sensibilidade insulínica
Secreção de adiponectina	TAS>TAV	Aumenta sensibilidade insulínica

Secreção de resistina	TAV>TAS	Reduz sensibilidade insulínica
Visfatina	TAV>TAS	Efeito mimético à insulina
Secreção de angiotensina	TAV>TAS	Diferenciação pré-adipócito Aumenta a Pressão arterial
Secreção de TNF-alfa	TAS>TAV	Inflamação. Resistência insulínica
Secreção de IL-6	TAV>TAS	Inflamação. Resistência insulínica
Secreção do ativador do plasminogênio (PAI-1)	TAV>TAS	Aumenta o risco cardiovascular

Adaptado de Wajchenberg (2000)

Figura 4- Principais características do tecido adiposo visceral (TAV) em comparação ao abdominal subcutâneo (TAS).

2.1.2 Adiposidade intramuscular

O conteúdo de lipídeos no músculo esquelético de obesos corresponde a aproximadamente 3 a 4% da área total da fibra, enquanto que este valor situa-se por volta de 1 a 2% nos indivíduos magros (CORCORAN et al., 2007).

O aumento no conteúdo intramiofibrilar de triglicerídeos (TGIM) tem sido associado à redução da sensibilidade periférica à insulina. Em indivíduos igualmente obesos, os diferentes graus de resistência insulínica parecem ser determinados pelos depósitos de TGIM (CORCORAN et al., 2007).

As hipóteses mais aceitas são as de que o excesso de ácidos graxos no músculo poderia causar menor captação de glicose nesse tecido bem como menor ativação da enzima glicogênio sintetase, ambas mediadas pela insulina, o que poderia dificultar a difusão da insulina e gerar a competição da glicose com os ácidos graxos livres na mitocôndria, influenciando, assim, a ação da insulina (DAVID et al, 2000; HERMSDORFF; MONTEIRO, 2004; JENSEN, 2008).

Uma das explicações plausíveis, segundo Weiss (2007), relaciona-se ao conteúdo de lipídios da dieta, uma vez que dietas hiperlipídicas podem aumentar em 36 a 90% o conteúdo de TGIM, dependendo do tempo e conteúdo inicial de lipídios no músculo.

Em obesos inativos, a contínua oferta de lipídios da dieta em longo prazo reduziria a capacidade de oxidação desses lipídios e aumentaria o estoque total de TGIM. Ainda, este mesmo autor aponta que o aumento dos TGIM pode ocorrer em função da maior circulação de ácidos graxos livres, frequentemente observada em indivíduos obesos insulino resistentes (WEISS, 2007).

Desta forma, nota-se que a tendência em acumular lipídios no músculo pode ser geneticamente determinada bem como influenciada por fatores dietéticos e de

inatividade física, os quais resultam em menor quantidade e funcionalidade mitocondrial (WEISS, 2007).

Os ácidos graxos, provenientes do acúmulo de TGIM, causam um distúrbio na via de transdução de sinais da insulina, eventualmente reduzindo a captação de glicose. Essa via de transdução culmina na diminuição do tráfego dos transportadores de glicose (GLUT-4) em direção a membrana do miócito. A estimulação da insulina causa a fosforilação do substrato do receptor desse hormônio (IRS1). A fosforilação das proteínas IRS cria sítios de ligação para outra proteína citosólica, denominada fosfatidilinositol 3-quinase (PI3k), promovendo sua ativação (PAULI et al., 2009).

Essa ativação, por sua vez, conduz a translocação do GLUT-4 para a membrana da fibra muscular e permite captação da molécula de glicose. O excesso de ácidos graxos no interior da célula inibe a ativação dessas proteínas chaves da via insulínica e, por sua vez, reduz a translocação do GLUT4 para a membrana da fibra (WEISS, 2007; PAULI et al., 2009).

De acordo com Pauli et al. (2009), a relação entre os ácidos graxos e resistência insulínica parece ser decorrente do acúmulo de triglicerídeos e metabólitos derivados da oxidação das gorduras (diacilglicerol, acetil-CoA e ceramidas) no músculo e no fígado, os quais são capazes de provocar a ativação da PKC e/ou da kinase I κ B e, também, de causar fosforilação em serina do IR e de seus substratos, impedindo a adequada sinalização da insulina.

Frayn (2000) acredita que o tecido adiposo age como um tampão para o excesso de ácidos graxos na circulação, porém sob condições de obesidade e ingestão excessiva de lipídios, esses ácidos graxos em excesso por si só se acumulam em outros tecidos como os músculos, fígado e pâncreas.

2.1.3 Gordura hepática

O acúmulo de lipídios no fígado, conhecido como esteatose hepática, constitui-se como um problema de saúde pública, pois vai desde a infiltração gordurosa e inflamação (esteatohepatite) até a fibrose e cirrose hepáticas (WEISS, 2007). Aproximadamente 20% da população com estilo de vida ocidentalizado possui esteatose hepática não alcoólica (EHNA) (KARNIKOWSKI et al., 2007). No estudo de Karnikowski et al. (2007), os autores observaram que 1 em cada 3

peessoas de meia-idade ou idoso brasileiro apresentou sinais clínicos compatíveis com esta doença.

A esteatose hepática é o resultado do desbalanço entre síntese, liberação e utilização dos triglicerídeos, provocado, provavelmente, pelo aumento do fluxo de AGL provenientes dos depósitos adiposos (como ocorre na obesidade visceral); pela lipogênese *de novo* no interior do fígado *devido à maior oferta de acetil-CoA* ou por fatores dietéticos, como o excesso de ácidos graxos e carboidratos da dieta (STEFAN et al., 2008).

As evidências recentes apontam que a resistência insulínica tem um papel central na patogênese da EHNA (KARNIKOWSKI et al., 2007). O balanço entre lipogênese e lipólise é controlado, principalmente, pela razão entre insulina e glucagon. Na resistência insulínica, há a alta liberação de AGL pelo tecido adiposo com consequente captação, síntese e retenção de triglicérides no hepatócito, o que leva à esteatose macrovesicular. Esse processo provoca a liberação de glicose hepática com consequente estímulo pancreático à produção de insulina para manter a euglicemia. A concentração aumentada de insulina no fígado induz a lipogênese criando, assim, um ciclo vicioso. É provável que uma menor oxidação de ácidos graxos, por disfunção mitocondrial, possa contribuir para esta alteração. Além disso, o alto consumo de carboidratos (especificamente frutose) e ácidos graxos saturados, frequentemente observado nos obesos, também aumenta a lipogênese (WEISS, 2007).

Similar ao tecido adiposo, o fígado sob sobrecarga de lipídios, pode ter efeito secretório importante. Análogas às adipocinas, as hepatocinas podem interferir na regulação metabólica (STEFAN, 2008).

O estudo citado por Weiss (2007) mostrou que o acúmulo não alcoólico de lipídios no fígado era mais prevalente nos obesos com diabetes tipo 2, hipertensão e hiperlipidemia, o que levou os pesquisadores a acreditarem que a infiltração gordurosa no fígado está associada aos diversos componentes da síndrome metabólica (ex. obesidade, resistência insulínica e dislipidemia).

Por esse motivo, o tratamento da EHNA é direcionado à correção de seus fatores de risco e à recuperação do equilíbrio metabólico. A prática de exercícios físicos, a perda de peso e a adoção de hábitos alimentares saudáveis parecem ser as principais estratégias para a prevenção e tratamento da obesidade, esteatose hepática e síndrome metabólica, os quais serão discutidos a seguir.

2.2 Exercício físico no controle da síndrome metabólica

A inatividade física é o fator de risco modificável para obesidade mais prevalente nos Estados Unidos (LEON, 2009). No Brasil, apenas 16% da população adulta (>18 anos) atinge recomendações populacionais para atividade física no período de lazer. O índice de sedentarismo tende a ser pior com o avançar da idade (BRASIL, 2009).

O baixo gasto energético, associado cronicamente ao excesso de calorias ingeridas na dieta, culminam no excesso de peso e obesidade e nas doenças à ela associadas. Pesquisa recente realizada no Brasil sobre vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas não transmissíveis aponta que 43,3% dos adultos brasileiros estão acima do peso e 13% são obesos (BRASIL, 2009).

Particularmente, a obesidade associada ao acúmulo de gordura abdominal é o principal fator de risco independente para a síndrome metabólica, doença cardiovascular, diabetes tipo 2 e alguns tipos de câncer (LEON, 2009). No entanto, as reduções da atividade física e da aptidão física (expressa pelo consumo máximo de oxigênio- $VO_{2\text{máx}}$) também são apontadas como fatores de risco independentes para o desenvolvimento da síndrome metabólica (KATZMARZYK et al., 2005). O baixo condicionamento cardiorrespiratório, a pouca força muscular e o sedentarismo, por exemplo, aumentam em três a quatro vezes a prevalência da síndrome metabólica, de acordo com a SBH (2005). A inatividade física provoca alterações morfológicas, bioquímicas e moleculares que aumentam o risco de desenvolvimento da síndrome metabólica. Pacientes acometidos pelo diabetes tipo 2 e indivíduos com obesidade visceral, por exemplo, demonstram menor densidade capilar se comparados aos controles (WAJCHENBERG, 2000).

Por outro lado, a atividade física e dieta despontam como condutas iniciais de inúmeros consensos médicos (BRASIL, 2002; BRASIL, 2004; OMS, 2004; SBH, 2005; SBC, 2007), pois os dados atuais mostram que esse tipo de terapia tende a ser mais eficiente e econômico, portanto, altamente viável (OMS, 2004).

As evidências científicas indicam que a tolerância à glicose, sensibilidade insulínica, parâmetros lipídicos e inflamatórios, pressão arterial e atividade fibrinolítica podem ser melhorados com a prática regular de exercícios físicos (RIBEIRO; OLIVEIRA, 2005; PAULI, et al., 2009).

A figura 5 resume as recomendações para a prática de exercícios físicos com intuito de prevenção ou tratamento de diversas doenças crônicas não transmissíveis, incluindo as que compõem a síndrome metabólica.

Atividades físicas praticadas regularmente estimulam a translocação dos GLUT-4 e promovem captação e oxidação da glicose pelos músculos com consequente redução da sua concentração sanguínea (PAULI et al., 2009).

O alto *clearance* de glicose promovido pelos músculos ativos deve-se à alta expressão de GLUT-4 e, também, à sua translocação mais efetiva em direção à membrana celular, ambas mediadas pela enzima AMP-quinase, pelo aumento na concentração do íon cálcio no interior da célula muscular, maior atividade da NOS com consequente aumento da síntese por ela de Óxido Nítrico (NO), aumento na concentração de bradicinina ou até mesmo pela hipóxia induzida pelo exercício (PAULI et al., 2009).

A melhora da sensibilidade insulínica nos músculos exercitados também pode ser atribuída à redução dos metabólitos lipídicos provenientes do alto fluxo de ácidos graxos, como por exemplo os diacilgliceróis e as ceramidas (CORCORAN et al., 2007).

Os exercícios também diminuem a expressão e/ou atividade de proteínas inflamatórias de efeito negativo à ação da insulina e à integridade endotelial (PAULI et al., 2009). Estudos sugerem que a prática regular de exercícios estimula o aparecimento, na circulação, de citocinas anti-inflamatórias, tais como IL-1 e IL-10, e inibe a produção de citocinas pro-inflamatórias, como TNF- α e outras (VOLTARELLI et al., 2010).

A menor expressão de TNF- α induzida pelo exercício, reduz a produção de endotelina-1 e de angiotensinogênio, prevenindo tanto a disfunção endotelial como o aumento da pressão arterial. O aumento da angiogênese e da produção de NO também constitui um importante efeito terapêutico decorrente da prática regular de exercícios em indivíduos hipertensos (MONTEIRO; SOBRAL FILHO 2004).

O exercício amplia a capacidade do tecido muscular de consumir ácidos graxos, aumenta a atividade da enzima lipase lipoprotéica (LPL) no músculo e promove efeitos positivos sobre a concentração de lipídeos circulantes (CIOLAC; GUIMARÃES, 2004). O aumento do HDL-c e a redução da VLDL (rica em TG) são as alterações de lipoproteínas mais frequentes e tornam a prática de exercícios

aeróbios a estratégia mais eficaz e custo-efetiva na redução do risco cardiovascular (MESTEK, 2009).

A redução do risco cardiovascular promovida pelo exercício crônico pode estar associado à menor tendência trombogênica, esta devida à diminuição da atividade coagulante e ao aumento da atividade fibrinolítica. Os efeitos crônicos positivos são associados principalmente ao exercício aeróbio moderado e em pessoas com deficiências nestes processos (ex. pacientes hipertensos e pós-infarto do miocárdio) (RIBEIRO; OLIVEIRA, 2005).

Fonte	Atividades aeróbias caminhada, corrida, ciclismo, natação			Exercícios resistidos (com pesos)			Recomendações gerais ou adicionais
	Freq	Intensidade	Duração	Freq	Intensidade	Séries e Repetições	
ACSM Recomendação populacional para a promoção da saúde (2007)	3 ou 5x/se	Moderada (3 a 6 METs) vigorosa (>6METs)	30min/dia. (>10min/sessão) 20min/dia (>10min/sessão)	>2x/SS	8 a 12 RM	8 a 10 exercícios 8 a 12 repetições	As atividades leves do cotidiano devem ser somadas ao programa.
SBC. IV Diretriz Brasileira Sobre Dislipidemias (2007)	3 a 6x/se	60 a 80% da FC _{máx} obtida no TE	30 a 60min/ Sessão	NR	50% de 1RM. O TR deve ser complemento ao treinamento aeróbio	NR	NR
SBD. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes (2006)	3 a 5x/se	40 a 60% do VO ₂ _{máx} ou 50 a 70% da FC _{máx}	30 a 60 min/ Sessão	3x/se	8 a 10 RM	3 séries de 8 a 10 repetições	Indicados pelo menos 150 minutos/semana de AF moderada para a prevenção do DM
SBC. V Diretrizes Brasileiras de Hipertensão (2007)	3 a 5x/se	50 a 70% da FC _{máx} para sedentários 60 a 80% da FC _{máx} para condicionados	30 a 60 min/ Sessão	NR	50 a 60% de 1RM	NR	Todo adulto deve realizar pelo menos 30 min. de AF moderadas em pelo menos 5 dias/semana.
DHHS. Prevenção da Obesidade. Guia alimentar (2005)	Maioria dos dias da semana	moderada a vigorosa	60min/ Sessão	NR	NR	NR	Recomenda-se 60 a 90 min/dia de AF moderada ou intensa p/ prevenção do reganho de peso.
SBC. I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica (2005)	3 a 5x/se	50 a 65% do VO ₂ _{máx}	30 a 60 min/ Sessão	NR	50% de 1RM O TR deve ser complemento ao treinamento aeróbio	NR	Devem ser encorajadas as AF leves do cotidiano ou moderadas por pelo menos 30 minutos na maioria dos dias da semana

Adaptado de Coelho e Brurine (2009)

Freq.=frequência; TE=teste ergométrico; FC_{máx}=frequência cardíaca máxima obtida por teste ergométrico ou pela fórmula 220-idade; NR=não relatado; VO₂_{máx}=consumo máximo de oxigênio; AF=atividade física; RM=repetição máxima; x/se= vezes por semana; MET: equivalente metabólico; min/sessão.=minutos por sessão; EPE=escala de percepção de esforço; TR=treinamento resistido.

Figura 5- Recomendações atuais para atividade física ou exercícios físicos preventivos e terapêuticos.

Particularmente, os mecanismos que associam a atividade física à prevenção e tratamento do excesso de peso e obesidade envolvem principalmente o aumento do gasto energético durante e após a atividade física (consumo de oxigênio pós atividade-EPOC), a maior taxa metabólica de repouso, o aumento da massa muscular e a maior oxidação de lipídios pelos músculos (CIOLAC; GUIMARÃES, 2004).

Embora os efeitos positivos do exercício físico sobre a coagulação, atividade fibrinolítica, controle glicêmico, pressão arterial e níveis de lipídeos circulantes sejam independentes de mudanças na composição corporal, é consenso que a redução dos estoques de gordura são capazes de potencializar tais efeitos (MARWICK et al., 2009). No entanto, os resultados acerca dos efeitos do exercício sobre o tecido adiposo ainda são conflitantes e poucas pesquisas se concentram no efeito isolado do exercício físico sobre os diferentes depósitos adiposos (THOMAS et al., 2000).

As evidências indicam que para todas as formas de redução de peso (ex. dieta, exercício ou medicamentos), o tecido adiposo visceral é mais sensível em relação ao subcutâneo abdominal, pois os adipócitos omentais e mesentéricos são metabolicamente mais ativos e sensíveis à lipólise. Por outro lado, em ambos os gêneros e independente do grau de obesidade, as células gluteais e femorais exibem menor resposta lipolítica às catecolaminas do que os adipócitos subcutâneos abdominais (WAJCHENBERG, 2000; JENSEN, 2008).

Este fato é clinicamente relevante, pois o acúmulo de gordura na região do abdômem está intimamente relacionada a diversos fatores de risco cardiovasculares, enquanto que a gordura subcutânea nas regiões periféricas (ex. pernas), podem exercer efeitos protetores contra os distúrbios metabólicos (OKURA et al., 2004). Segundo Okura et al. (2004), a gordura nesta região pode secretar o hormônio adiponectina, o qual apresenta propriedades antiaterogênicas.

2.3 Ácidos graxos dietéticos no controle da síndrome metabólica

No que diz respeito aos aspectos nutricionais para a prevenção e tratamento das doenças associadas à síndrome metabólica, as diretrizes gerais estabelecem, basicamente, o controle do balanço energético, a ingestão de fibras e ácidos graxos mono e poliinsaturados e a redução do consumo de açúcares, sal e gorduras hidrogenadas (“*trans*”) (BRASIL, 2002; BRASIL, 2004).

Há algumas décadas, inúmeros estudos têm evidenciado a relação positiva entre ingestão de gorduras e incidência de doenças cardiovasculares (DCV) (HOOPER et al., 2001). A partir de estudos clássicos, como o *Seven Country Study*, citado por RIQUE et al. (2002), que observou que a população Mediterrânea, que se alimentava de gorduras predominantemente provenientes do azeite, apresentava menor prevalência de DCV em relação a de outros países, como EUA e Holanda, cujo consumo era, em grande parte, proveniente das gorduras animais. Dessa forma, reascendeu-se o debate em torno do papel dos diferentes tipos de lipídios na gênese dos distúrbios metabólicos.

Assim, definiu-se que não somente a quantidade, mas a natureza da gordura da dieta, interfere no perfil metabólico. Fatores como comprimento, número de insaturações e arranjo estrutural das cadeias carbônicas conferem aos ácidos graxos diferentes propriedades físicas, químicas e biológicas (MURRAY et al., 2002), fazendo com que alguns tipos de lipídios, como os insaturados, devam ser consumidos em maiores quantidades enquanto outros (ex. saturados e trans) precisam ter ingestão restringida (OMS, 2004; SBC, 2005).

A recomendação para a população em geral quanto às necessidades nutricionais para a manutenção da saúde sugere que o conteúdo de gordura na alimentação das pessoas saudáveis não exceda 30% da ingestão calórica, que menos de 10% das calorias sejam provenientes de ácidos graxos saturados e que a quantidade de colesterol na alimentação seja menor que 300mg/dia (OMS, 2004).

Os ácidos graxos saturados não possuem insaturações (duplas ligações) na molécula, ao contrário dos insaturados que possuem uma (monoinsaturados) ou mais insaturações na molécula (poliinsaturados) e estão presentes em maior quantidade nas células humanas, embora a composição de lipídios varie consideravelmente entre os diferentes tecidos, dependendo, em certo grau, do tipo de ácidos graxos dos lipídios da dieta (CURI et al., 2002).

Os ácidos graxos saturados reduzem receptores hepáticos de LDL-c inibindo, assim, sua remoção. Além disso, são capazes de ativar proteínas de membrana celulares denominadas TLR-4, uma das isoformas de *toll like receptors*, a qual funciona como mediadora da via inflamatória e gera consequências negativas para ações da insulina em tecidos metabólicos (PAULI et al., 2009).

Esses receptores pertencentes à família TLR desempenham uma conexão importante entre o sistema imune inato e o sistema metabólico. Evolutivamente

preservados, esses receptores sensíveis a patógenos desempenham importante atividade próinflamatória (PAULI et al., 2009).

Por outro lado, a inclusão dos ácidos graxos insaturados na dieta reduz a produção e aumentam a remoção do LDL colesterol (aumentam o número de receptores hepáticos), diminuem a oxidação do LDL-c, a peroxidação lipídica na artéria, o stress oxidativo, a agregação plaquetária e a formação da placa de ateroma. Os antioxidantes como o alfa tocoferol inibem a oxidação de LDL, diminuindo sua aterogenicidade (SBC, 2007).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2005) reconhece os ácidos graxos insaturados ômega 3 e 6 como alimentos com alegação de propriedades funcionais, ou seja, capazes de oferecer vários benefícios à saúde, além do valor nutritivo inerente à sua composição química, podendo desempenhar um papel potencialmente benéfico na redução do risco de doenças crônico degenerativas.

A inclusão de alimentos com alegação funcional na dieta é uma tendência que tem gerado crescimento na comercialização desses produtos e despertado a curiosidade da indústria farmacêutica. Particularmente nos países em desenvolvimento, o uso terapêutico de plantas e frutos nativos é comum, apesar de pouco conhecido do ponto de vista científico (IKEDA, 2010).

Estima-se que das 300 mil espécies de plantas no mundo, apenas 15% delas tenham sido submetidas a algum estudo científico para avaliar suas potencialidades na preparação de novos produtos, sendo que 70% das plantas existentes no planeta ocorrem em apenas 11 países: Austrália, Brasil, China, Colômbia Equador, Índia, Indonésia, Madagascar, México, Peru e República Democrática do Congo (BRANDÃO et al., 2010).

A Floresta Amazônica, a Floresta Atlântica e o Cerrado estão incluídos entre os mais ricos reservatórios de vida vegetal no planeta. Além disso, a Caatinga e o Pantanal abrangem quase 15% do território brasileiro e também contém vasta diversidade biológica (BRANDÃO et al., 2010).

De acordo com Guarim Neto (2006), “ao se analisar a flora mato-grossense sob o ponto de vista econômico, com certeza serão encontradas diferentes utilizações dos vegetais, seja como elementos fornecedores de madeira, de frutos comestíveis e mesmo com finalidades medicinais”. O baru (*Dipteryx Alata Vog.*) se enquadra nestas características.

A seguir, serão descritas as características do baru bem como a sua composição e possibilidades de utilização na prática clínica (figura 6).

2.4 O baru (*Dipteryx Alata* Vog)

O baru, também conhecido pelos nomes populares de cumaru, cumbaru, coco-feijão, fruta-de-macaco, cumarurana, barujo e castanha-de-burro, pertencente à família Leguminosa, de ocorrência abundante nos estados do Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, Goiás, Tocantins, Distrito Federal, Minas Gerais, Maranhão e São Paulo (TAKEMOTO et al. 2001; LORENZI, 2002).

É uma espécie típica do cerrado Brasileiro e com grande potencial econômico devido ao seu múltiplo uso: alimentício, madeireiro, medicinal, industrial e paisagístico, podendo também ser utilizado como madeira de reflorestamento (POTT; POTT, 1994; OLIVEIRA et al., 2006). Takemoto et al. (2001) descrevem na figura 6 os produtos e subprodutos do baru e suas possibilidades de uso.

Parte do fruto	Produto/sub-produto	Uso
Polpa	Polpa in natura	Alimentação animal, alimentação humana e medicinal/farmacêutico
	Polpa desidratada	Alimentação animal, alimentação humana e medicinal/farmacêutico
	Farinha	Alimentação humana
	Álcool/Cachaça	Consumo humano, medicinal/farmacêutico e cosmético
	Resíduos	Agrícola (adubo orgânico)
Amêndoa	Amêndoa crua	Alimentação animal, alimentação humana, Medicinal/farmacêutico e agrícola (produção de mudas)
	Amêndoa torrada	Alimentação humana
	Farinha	Alimentação humana
	Óleo	Alimentação humana, Medicinal/farmacêutico, cosmético, industrial
	Torta	Alimentação humana, medicinal/farmacêutico, cosmético
Endocarpo lenhoso	Carvão	Combustível
	Endocarpo lenhoso	Artesanato

Adaptada de Takemoto et al. (2001).

Figura 6- Produtos e subprodutos do baru e respectivo uso.

O uso medicinal da planta vai desde a casca, relacionada ao alívio de dores na coluna, até o fruto e a semente (amêndoa). Relatos isolados baseados na medicina caseira sugerem que o óleo extraído da amêndoa tem ação anti-reumática e apresenta propriedades sudoríferas, tônicas e reguladoras da menstruação (SANO et al., 2004).

Guarim Neto (2006) investigou os aspectos inerentes ao conhecimento tradicional pantaneiro sobre as plantas do pantanal, e relatou que o chá do baru, tanto as cascas do caule como as folhas desta espécie tem uso contra disenterias. No uso externo serve para a assepsia de feridas (Figura 6).

A amêndoa é altamente energética (entre 470 a 600 kcal/100g), tem sabor agradável e pode ser consumida como aperitivo ou em inúmeras receitas como substituta da castanha de caju, amendoim ou nozes. É rica em ácidos graxos insaturados (aproximadamente 80% do total dos lipídios, 44,5% de ácido oléico e 31,7% de ácido linoléico), proteínas, fibras solúveis e insolúveis e minerais essenciais como o ferro (5,35mg/100g), zinco (4,2mg/100g), cálcio (141mg/100g) e magnésio (143mg/100g), cobre (1,4mg/100g). O teor de ácido graxo linoléico da amêndoa (31,8 mg) é mais alto do que o do azeite de oliva (SANO et al., 2004). O óleo da amêndoa também tem alto teor de α -tocoferol (5mg/100g) (TAKEMOTO et al., 2001). A figura 7 mostra a composição centesimal aproximada da semente de baru.

Componente	g /100g
Proteína	23,9
Gorduras totais	38,2
Gorduras saturadas	7,18
Gorduras insaturadas	31,02
Fibras totais	13,4
Carboidratos	15,8

Adaptada de Takemoto et al. (2001).

Figura 7- Composição centesimal aproximada da semente de baru.

Essas características do alimento são excelentes atrativos no que se refere à sua utilização na indústria alimentícia e farmacêutica. Além disso, as propriedades nutricionais da amêndoa despertam o interesse em pesquisa clínica, já que a

utilização de gorduras mono e poliinsaturadas, fibras e nutrientes antioxidantes como o α -tocoferol é considerada como conduta nutricional na prevenção e tratamento da síndrome metabólica (SBC, 2005). Os fitoquímicos e esteróis poderiam conferir efeitos hipolipemiantes inerentes a esse alimento.

Entretanto, não existem dados científicos que comprovem a funcionalidade do baru sobre diversos fatores de risco coronarianos, o que mostra a necessidade de pesquisas sobre esse tema.

Por fim, o estudo de novas possibilidades de aplicação de terapias não-medicamentosas é fundamental para o desenvolvimento de programas eficazes e economicamente viáveis aos serviços públicos de saúde para a prevenção primária da síndrome metabólica.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Estudar os efeitos de dietas ricas em lipídios (chocolate e baru) e do exercício aeróbio sobre os diferentes depósitos adiposos e substratos teciduais de ratos Wistar.

3.1.1 Objetivos Específicos

Estudar os efeitos de dietas ricas em lipídios (chocolate e baru) e do exercício aeróbio sobre:

- Consumo alimentar;
- Ganho de peso;
- Peso dos tecidos adiposos inguinal, retroperitoneal e omental;
- Área de adipócitos dos tecidos inguinal, retroperitoneal e omental;
- Conteúdo de triglicerídeo hepático e muscular;
- Conteúdo de glicogênio hepático e muscular;
- Ácidos graxos livres;
- Análise histopatológica do fígado.

4 METODOLOGIA

4.1 Preceitos éticos

O presente trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais que está instituída no âmbito da Universidade Federal Mato Grosso do Sul (UFMS), de acordo com o protocolo nº 183/2008.

4.2 Amostra

A amostra inicialmente foi constituída de 48 ratos machos saudáveis da linhagem *Wistar* procedentes do Biotério da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul (UFMS). Ao longo do estudo, 6 animais morreram por não se adaptarem ao protocolo de exercício (natação).

Os animais foram mantidos em gaiolas coletivas (5 ratos/gaiola), à temperatura constante de 28°C e sob ciclo claro/escuro de 12 horas; o consumo de água e dieta foi sob o sistema de livre acesso (figura 8 e 9).

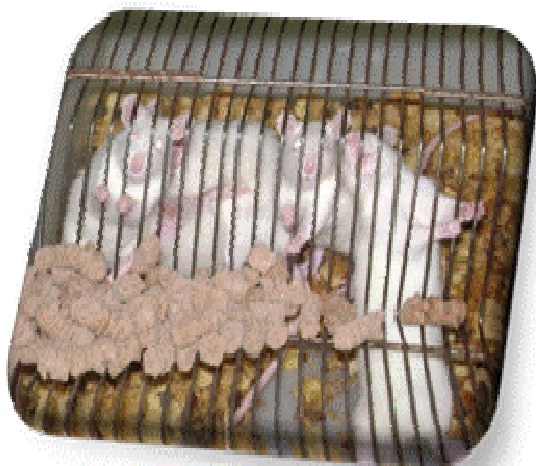


Figura 8- Animais na gaiola do experimento.



Figura 9- Gaiolas coletiva para os ratos utilizados no experimento.

4.3 Delineamento experimental

Com a finalidade de induzir a hiperadiposidade, a partir dos 30 dias de vida os animais receberam uma dieta hiperlipídica/hipercalórica altamente palatável (tipo

cafeteria: chocolate) e foi restringido o espaço para movimentação (sedentarismo). Este período respeitou os 21 dias referente ao desmame e o adicional de nove dias para que o aparelho digestório dos animais estivesse completamente desenvolvido e adaptado à alimentação sólida (AOYAMA et al., 2000).

Essa dieta hiperlipídica/hipercalórica foi oferecida durante dois meses ininterruptos, sem a realização do exercício físico. Ao final desse período, foi introduzido o treinamento físico e a nova dieta, à base de extrato etéreo de baru. A partir daí, os animais foram separados em 6 grupos, de acordo com a realização ou não do treinamento físico e ingestão das dietas hiperlipídicas ou normolipídica. Esta intervenção teve a duração de 2 meses. O grupo controle foi alimentado com a mesma dieta normolipídica/normocalórica do início ao final do estudo.

Assim, formaram-se 6 grupos experimentais:

- Baru Exercício (BE) (n=6): animais alimentados com dieta a base de extrato etéreo de baru e treinados por natação durante oito semanas (2meses);
- Baru Sedentário (BS) (n=9): animais alimentados com dieta a base de extrato etéreo de baru e mantidos sedentários.
- Chocolate Exercício (CHOE) (n=9): animais alimentados com dieta a base de chocolate e treinados por natação durante oito semanas (2meses);
- Chocolate Sedentário (CHOS) (n=10): animais alimentados com dieta a base de chocolate e mantidos sedentários.
- Controle Exercício (CE) (n=4): animais alimentados com dieta padrão (normocalórica\normolipídica) e treinados por natação durante oito semanas (2meses);
- Controle Sedentário (CS) (n=4): animais alimentados com dieta padrão (normocalórica\normolipídica) e mantidos sedentários.

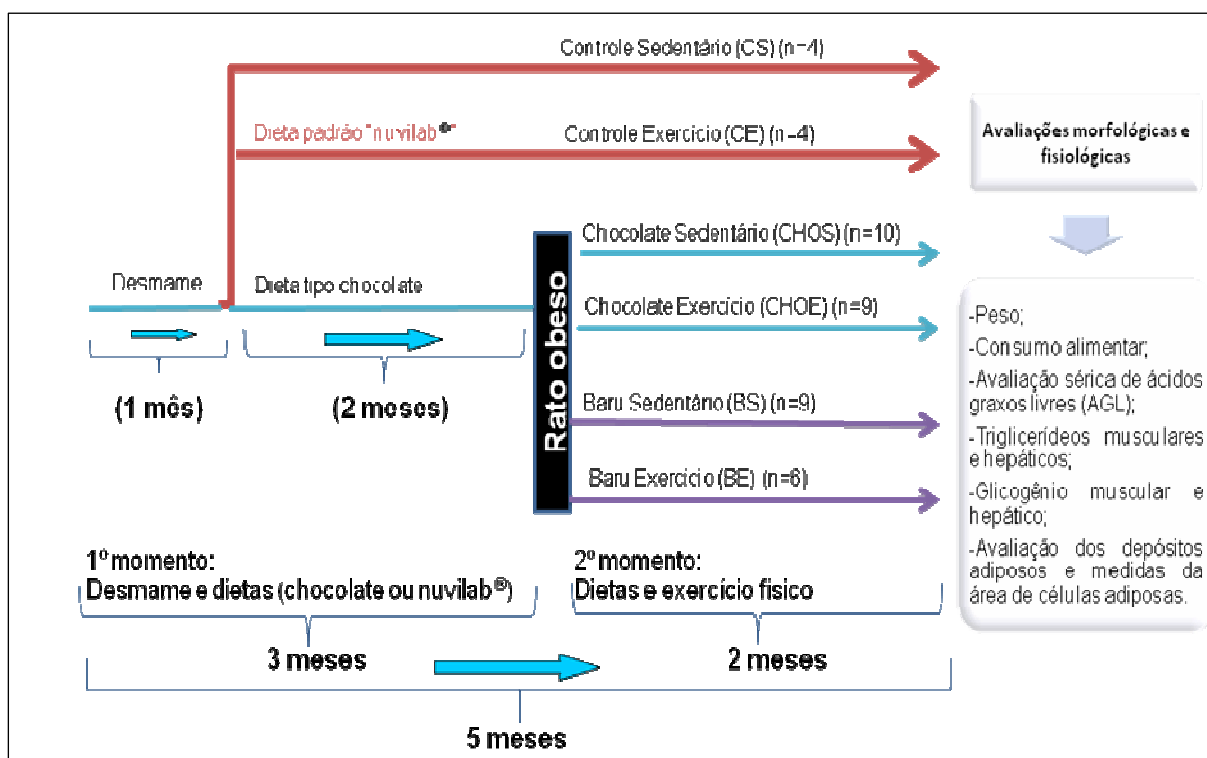


Figura 10- Desenho experimental do estudo.

4.4 Dietas experimentais

A dieta comercial normocalórica/normolipídica (NUVILAB®), foi adotada neste estudo como a dieta controle. A dieta tipo cafeteria (chocolate) foi uma adaptação de Duarte et al. (2006). A mesma foi composta por 25% de amendoim torrado, 25% de chocolate ao leite e 12,5% de biscoito de maisena, 17% de proteína (caseína), 4,5% de celulose, 5% de vitaminas e minerais e 10% de fibras. Estes ingredientes foram moídos, misturados e oferecidos na forma de péletes.

Para o cálculo do conteúdo energético da dieta foi utilizada a multiplicação da quantidade dos macronutrientes (em gramas) pelos seus equivalentes calóricos, ou seja, 4kcal, 4kcal e 9kcal para cada grama de carboidrato, proteína e lipídeo, respectivamente. O conteúdo energético da dieta foi de 4,17 kcal/g.

A dieta baru foi elaborada substituindo-se a fração lipídica (amendoim e chocolate) da dieta chocolate tipo cafeteria pelo extrato etéreo de baru, sendo que os componentes caseína, *mix* mineral, *mix* vitamínico, amido de milho, celulose e sacarose tiveram suas preparações recalculadas para que as mesmas

apresentassem a mesma composição em nutrientes e mesmo valor calórico da dieta chocolate.

As sementes torradas de baru foram adquiridas no Centro de Produção, Pesquisa e Capacitação do Cerrado – CEPPEC, Assentamento Andalucia do Município de Nioaque, Mato Grosso do Sul, no período de Novembro de 2007 a Julho de 2008.

As sementes selecionadas foram primeiramente trituradas em um triturador tipo *turrax* (Turratec mod TE-102–Tecnal) e peneiradas em tamis com malha de 20 mesh, obtendo-se uma farinha homogênea. Em seguida, a amostra foi desengordurada em aparelho extrator de Soxhlet, utilizando éter de petróleo p.a. (PE:30-60°C) como solvente, obtendo-se o extrato etéreo. Esse extrato, após eliminação do solvente em evaporador rotatório (Marca Marconi mod MA120), foi acondicionado em vidros e armazenados como extrato de baru, para posterior adição como ingrediente da ração.

A figura 11 mostra o fluxograma utilizado para o tratamento das amêndoas para a obtenção do óleo ou extrato etéreo das sementes de baru.



Adaptado de Oliveira (2009).

Figura 11- Fluxograma para obtenção do extrato de baru utilizado como ingrediente de ração/dieta para os ratos estudados.

Todas as formulações dietéticas foram preparadas conforme os critérios do *American Institute of Nutrition* (REEVES et al., 1993) para inclusão de nutrientes na dieta de roedores considerando a fase de manutenção.

As análises da composição centesimal das rações preparadas foram realizadas. A determinação de umidade ocorreu por dessecação em estufa a 105°C (método gravimétrico), conforme procedimento do BRASIL (2005). Determinou-se a proteína pelo conteúdo de nitrogênio total (%), segundo o método microKjeldahl (AOAC, 1992), usando o fator 6,25 para conversão do nitrogênio em proteínas. As cinzas (resíduo mineral fixo) foram determinadas pelo método gravimétrico (incineração em mufla a 550°C), os açúcares (sacarose e amido) conforme BRASIL (2005) e a fibra pelo método da fibra detergente neutro (AOAC, 1992).

A composição centesimal e conteúdo energético das dietas adotadas no estudo estão apresentados na figura 12.

Constituintes	Dieta		
	Baru	Chocolate	Controle
Umidade	5,87	5,13	12,50
Resíduo mineral fixo	2,69	1,96	10,00
Lípidios	17,34	21,58	4,50
Proteínas (N x 6,25)	21,08	16,87	22,00
Carboidrato	42,95	39,29	55,00
Fibras	10,07	14,45	8,00
Valor calórico total kcal/100g	412,18	417,43	348,5

Figura 12- Composição centesimal das dietas experimentais elaboradas para ratos do Grupo Baru, Grupo Chocolate e Controle expressa na base úmida, em g/100g.

A composição de ácidos graxos dos alimentos considerados fontes de lipídios das dietas preparadas, apresentada na figura 13, foi obtida através do rótulo dos alimentos e de artigos científicos de cálculo do perfil de lipídios desses alimentos (TAKEMOTO, 2001; FREIRE et al., 2001).

A proporção de ácidos graxos saturados no chocolate (59,3%) é superior à do óleo de baru (19%) e do amendoim (2,2%). A proporção de gorduras monoinsaturadas no óleo de baru é superior a do chocolate (50% vs 34%) e inferior

a do amendoim (50% vs 67%). O conteúdo de poliinsaturados do baru (28%) é semelhante ao do amendoim (33%), porém muito superior ao do chocolate (3%).

Alimentos lipídicos	Proporção de ácidos graxos (AG)			
	g/100g			
	AG totais	AG Saturados	AG Monoinsaturados	AG Poliinsaturados
Amendoim	45	1	30	14
Chocolate	32	19	11	1
Óleo de Baru	100	19	50	28

Takemoto, 2001; Freire et al., 2001

*g/100g=g de ácidos graxos/100g de alimento.

Figura 13- Proporção de ácidos graxos dos alimentos fontes de lipídeos, adicionados às dietas chocolate e baru.

Dieta	Proporção de ácidos graxos (AG)			
	AG	AG Saturados	AG Monoinsaturados	AG Poliinsaturados
	AG totais (g)			
Chocolate*	18,6	5	10	3,6
Baru	16,5	3,2	8,5	4,8

*Cálculo realizado com base na quantidade de alimento adicionado na preparação da dieta. Incluiu apenas os alimentos amendoim e chocolate ao leite (25g de amendoim e 25g de chocolate).

Figura 14-Perfil de ácidos graxos das dietas chocolate e baru.

4.5 Programa de treinamento físico aeróbio

Após o período de três meses de estudo, sendo destes um de desmame e dois meses de ingestão da dieta hipercalórica/hiperlipídica (chocolate), os animais dos grupos baru exercício (BE), chocolate exercício (CHOE) e controle exercício (CE) realizam o treinamento físico de natação durante 2 meses. As figuras 14 e 15 mostram os animais no momento do treinamento físico de natação.

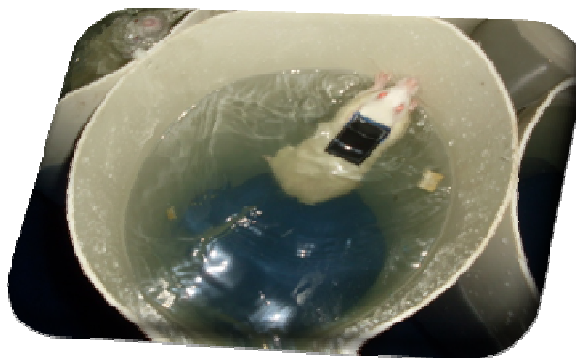


Figura 15- Animal executando o protocolo de natação.

A adaptação consistiu inicialmente em manter os animais em água rasa à temperatura de $32\pm 2^{\circ}\text{C}$, ao passo que os mesmos se adaptavam a quantidade de água era aumentada. A partir disto, os animais iniciaram a adaptação da sobrecarga de chumbo inseridos em “mochilas” de tecido fechadas com velcro® e atadas ao tórax com o auxílio de um elástico (VOLTARELLI et al., 2002). Para este procedimento de adaptação foi utilizado o protocolo descrito por Sampaio e Barros et al. (2003), o qual consistiu em 5 dias de treino progressivo, sendo “5 minutos no primeiro dia, 15 minutos no segundo dia, 30 minutos no terceiro dia, 45 minutos no quarto dia e 60 minutos no quinto dia”. O propósito da adaptação foi reduzir o estresse dos animais frente ao exercício físico realizado na água (GOBATTO et al., 2001).

O protocolo de exercício físico foi realizado em piscina raiada (Caixa D água de fibra e tubos de PVC de 50 cm de altura por 15 cm de diâmetro). Os animais efetuaram o treinamento em uma frequência de cinco dias por semana (1 hora/dia), suportando carga equivalente a 2% do peso corporal atada ao dorso dos mesmos pelo colete flexível, durante oito semanas, com início aos 90 dias de idade (3 meses de estudo). A intensidade de 2% do peso corporal, utilizada no presente estudo, pode ser considerada moderada ou sub-limiar, uma vez que já está bem estabelecido que a carga equivalente à transição metabólica aeróbia/anaeróbio (limiar anaeróbio) é obtida, em média, em 5% do peso corporal a partir da aplicação de diferentes testes adaptados às condições do rato durante o exercício de natação (VOLTARELLI et al., 2002; VOLTARELLI et al., 2004; MANCHADO et al., 2006; GOBATTO et al., 2005; CONTARTEZE et al., 2007; GOBATTO et al., 2008). A figura 16 mostra o esquema do treinamento físico utilizado no estudo, levando em consideração os componentes do treinamento “tipo, frequência, intensidade e duração”.

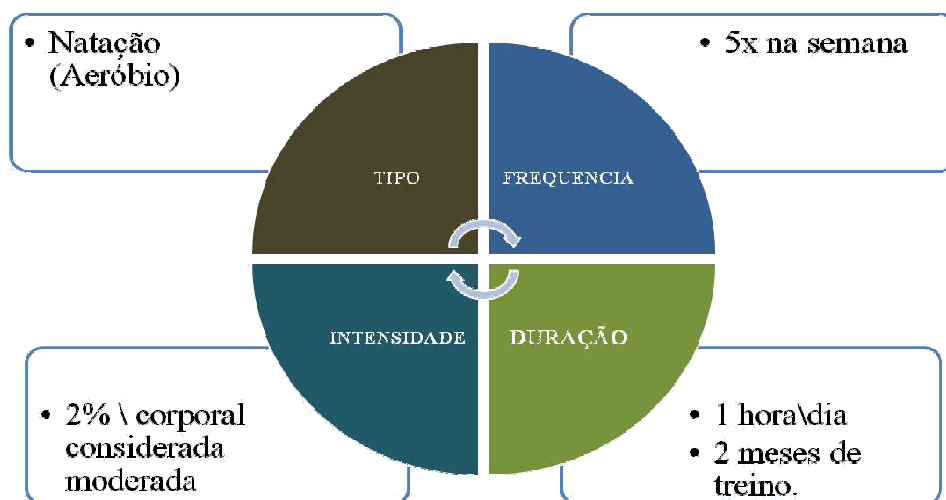


Figura 16- Esquema de treinamento utilizado no estudo.

Após a natação os animais foram secados por aproximadamente 15 minutos em um secador silencioso e marcados na cauda (identificação) para serem colocados em suas respectivas gaiolas limpas, como mostra a figura 17 e 18.

Os grupos dos animais sedentários passaram por uma carga de estresse semelhante, pois eram levados para a sala da natação e secagem, e a ração era retirada da mesma forma que os seus controles exercitados.



Figura 17- Animais controles no mesmo ambiente.



Figura 18- Animais exercitados no secador.

4.6 Avaliações morfológicas e fisiológicas

4.6.1 Peso

A avaliação do peso corporal dos animais foi verificada semanalmente em uma balança semi-analítica (Marca Marte-modelo AS 5.500®) como mostra a figura 19.



Figura 19- Avaliação do peso corporal dos animais

4.6.2 Consumo alimentar

Foi feita a avaliação de consumo alimentar (gramas de ração por dia). Os animais foram acondicionados em gaiolas coletivas e receberam quantidades conhecidas de ração (350g/dia/gaiola). Foi mensurada a quantidade restante de alimento em cada gaiola, podendo assim avaliar o consumo pela diferença de peso da ração ofertada no dia anterior. A ingestão energética foi calculada pela multiplicação da quantidade do alimento ingerido pelo valor calórico da dieta (kcal/g).

INGESTÃO ALIMENTAR: (Oferecido 350g – sobra ?) ÷ Número de animais p\gaiola

4.7 Determinação bioquímica e dos substratos teciduais

Após 48 horas da realização da última sessão de exercício, os animais foram mortos por inalação de CO₂, com jejum prévio de 22 horas. A excisão do fígado e músculo foi realizada de acordo com a descrição de Cinti (2005) para análise do conteúdo de triglicerídeos e glicogênio hepático e muscular, como mostra a figura 20 da cirurgia. Neste mesmo momento, também, foi coletado aproximadamente 1ml de sangue através de punção cardíaca, colocados em eppendorf, imediatamente centrifugados a 700 rpm/15min e armazenados a -80° C para posterior análises de ácidos graxos livres no soro (figura 21 e 22).



Figura 20- Corte medial no animal para retirada dos tecidos.



Figura 21- Coleta de sangue através da punção cardíaca.



Figura 22- Sangue centrifugado.

4.7.1 Avaliação sérica de ácidos graxos livres (AGL)

A análise dos ácidos graxos livres foi feita por meio de Kit comercial (Wako® NEFA C). Em uma placa de microensaio, foram pipetados 10 μL de cada amostra, padrões ou água milli-Q (branco), nos respectivos poços. Após adição de 100 μL do reagente de cor A, as amostras foram homogeneizadas e incubadas a 37° C durante 10 minutos. Em seguida, foram adicionados 200 μL do reagente de cor B, em todos os poços, e as amostras, novamente homogeneizadas e incubadas a 37° por 10 minutos. Após equilibrar a temperatura ambiente, durante 5 minutos, as absorbâncias foram lidas em 550 nm, utilizando leitor de Elisa (espectrofotometria). A concentração de AGLs foi determinada por extrapolação da reta da curva de

calibração traçada com padrão de ácido oléico, de acordo com Nogueira et al. (1990).

4.7.2 Triglicerídeos musculares e hepáticos

O músculo gastrocnêmico e aproximadamente 100mg de fígado foram coletados, pesados e mergulhados em metanol-clorofórmio (1:2) para extração dos lipídios, por 24h. A mistura recebeu 0,16 vol de solução fisiológica e foi agitada vigorosamente, depois centrifugada (2000 G x 5 min). A fase inferior (extrato lipídico) foi coletada e secada sob fluxo de ar. O material resultante foi solubilizado com Triton 5% em solução fisiológica a 37°C (Lo, 1970). Esse material foi utilizado para dosagem de triglicerídeos por meio de kit comercial (Intertek Katal®) com leitura em placa de ELISA. Para dosagem de materiais musculares foi utilizado o músculo gastrocnêmico inteiro, pois a distribuição de triglicerídeos é heterogênea na fibra muscular.

4.7.3 Glicogênio muscular e hepático

Um fragmento de aproximadamente 100mg de fígado e o músculo gastrocnêmio extraído foram dissolvidos com KOH 30% em H₂O, saturado com Na₂SO₄, a 100 °C por 30 min. O glicogênio foi precipitado com 1,2 vol de etanol a -20 °C e separado por centrifugação a 900G x 30min. O precipitado foi seco e dissolvido com H₂O a 100 °C, sendo quantificado por adição de 1 vol. de ácido fênico 5% e 2,5 vol. H₂SO₄ concentrado, o que produziu um composto de alta coloração em 450nm (Lo, 1970). O resultado final foi expresso como % do peso de músculo ou fígado frescos. Para o glicogênio muscular também foi utilizado o músculo gastrocnêmico inteiro, pois como dito anteriormente, a distribuição do glicogênio é heterogêneas na fibra muscular.

4.8 Avaliação dos depósitos adiposos e medidas da área de células adiposas

Após a morte dos animais, os depósitos adiposos inguinal (subcutâneo periférico), retroperitoneal (abdominal subcutâneo) e omental (abdominal visceral)

foram imediatamente removidos e pesados. A figura 23 mostra o momento da identificação dos respectivos tecidos adiposos para análise.

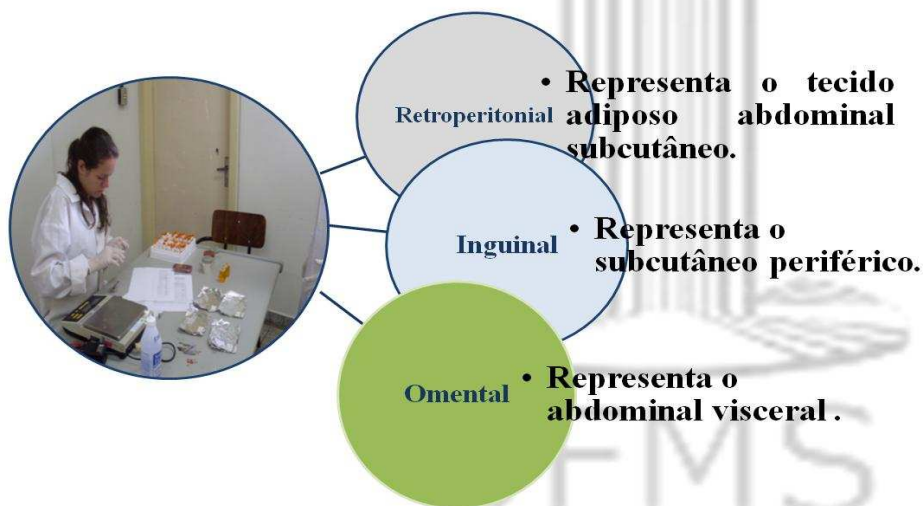


Figura 23- Momento da identificação dos tecidos adiposos.

Aproximadamente 100mg de cada tecido adiposo foi removido e colocado em solução salina, fixado em tampão colidina 0,2 M, contendo 2% de tetróxido de ósmio, em estufa à 37°C, por um período de 48 a 72 horas, aproximadamente (Figuras 24 e 25). Após essa etapa, as células foram lavadas e suspensas em solução salina, imediatamente retiradas e espalhadas em lâminas para posterior leitura/medida das áreas dos adipócitos (Figuras 26 e 27). Este método foi previamente descrito por Hirsch e Gallian (1968) e padronizado por Dâmaso (1996). A área dos adipócitos foi medida em aproximadamente 50 células adiposas do mesmo tecido de cada animal, utilizando um microscópio da marca *NIKON ECLIPSE E200®* e um software de análise de imagem *UTHSCSA imagem TOOL 3.0®*.

Tal procedimento consistiu em uma observação constante da quantidade de células medidas por subgrupo de animais utilizando, em média, aproximadamente 350 áreas de adipócitos.



Figura 24- Tecido removido e colocado em solução salina.



Figura 25- Tecido colocado em estufa.



Figura 26- Lâminas para análise da área de adipócitos.

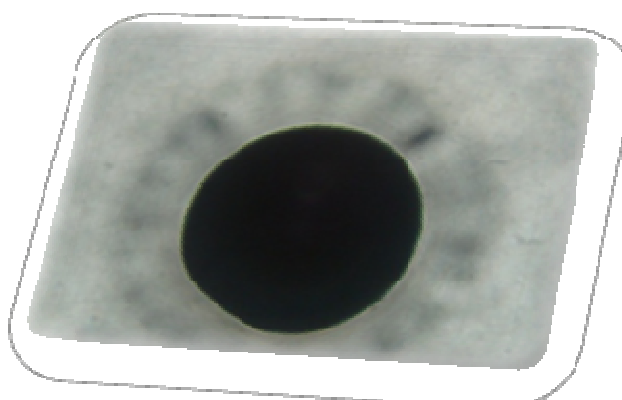


Figura 27- Célula adiposa visualizada em microscópio.

4.9 Análise histológica do fígado

Após a morte dos animais, o fígado foi imerso em Fixador de Bouin (20ml formol; 5ml ácido acético glacial; 75ml ácido pícrico; 1,5g ácido crômico); após 24 horas, esses órgãos foram transferidos para álcool 70%. Esta solução foi renovada periodicamente, conforme a eliminação dos resíduos de fixador. O órgão permaneceu em álcool 70% até a desidratação e inclusão em parafina. Os blocos de parafina contendo o órgão foram seccionados, sendo os cortes transferidos para lâminas e corados com Hematoxilina-Eosina. A análise das estruturas foi feita com a utilização de microscópio de luz com câmera de vídeo.

4.10 Análise estatística

Os dados foram analisados utilizando a análise de variância (ANOVA) de duas entradas para detectar diferenças entre os grupos exercitados e sedentários

alimentados com mesma dieta e entre as três diferentes dietas, seguido pelo Teste de Tuckey. Para o teste de normalidade, usou-se o teste de Kolmogorov-Smirnov e Box Cox, usado para converter dados não normais à normais. A comparação entre a ingestão alimentar dos animais (kcal/dia) foi feita mediante test t de Student para amostras não pareadas. Todos os valores foram expressos como média±desvio padrão e as diferenças fixadas em $p < 0,05$. Os dados obtidos na análise histopatológica foram apresentados em valores absolutos e relativos (%).

5 RESULTADOS

Verifica-se, na tabela 1 que a ingestão energética dos animais dos grupos exercitados foi semelhante nos três modelos de dieta. O mesmo ocorreu comparando-se os animais sedentários. Apenas os animais do grupo com dieta controle exercitado ingeriram mais calorias diárias em relação aos seus pares sedentários. Os grupos Baru (BE e BS) apresentaram tendência ao maior consumo de ração comparado a todos os outros grupos, com diferenças significativas entre BE x CHOS e BE x CS ($p < 0,05$).

Tabela 1- Ingestão energética (kcal/dia) dos animais sedentários (S) e exercitados (E), alimentados com dieta baru (B), chocolate (CHO) e controle (C), durante 60 dias.

Ingestão energética (kcal/dia)		
Grupos	N	Média±DP
BE	6	77,16±22,50 ^a
BS	9	73,94±21,96 ^{ab}
CHOE	9	62,28±13,73 ^{ac}
CHOS	10	60,19±10,01 ^{bc}
CE	4	70,72±13,10 ^a
CS	4	61,04±9,58 ^{bc}

a≠b≠c ($p < 0,05$); DP=Desvio padrão

A tabela 2 mostra que os animais sedentários alimentados com dietas hiperlipídicas/hipercalóricas à base de baru e chocolate ganharam significativamente mais peso corporal do que os animais sedentários alimentados com dieta controle. No entanto, o exercício físico atenuou esse ganho, sendo que os grupos hipercalóricos/hiperlipídicos exercitados apresentaram ganho de peso corporal similar ao grupo sedentário alimentado com dieta controle normocalórica/normolipídica. Os animais com dieta controle submetidos ao exercício perderam peso.

Tabela 2- Evolução do peso corporal dos animais sedentários (S) e exercitados (E) alimentados com dieta baru (B), chocolate (CHO) e controle (C), durante 60 dias.

Ganho de peso (g)		
Grupos	N	Média±DP
BE	6	37,14±21,11 ^{ac}
BS	9	71,14±20,71 ^b
CHOE	9	22,30±17,14 ^a
CHOS	10	54,94±18,70 ^{bc}
CE	4	-17,03±8,48 ^d
CS	4	21,28±25,23 ^{ad}

a≠b≠c≠d (p<0,05); DP=Desvio padrão

Os dados apresentados na tabela 3 indicam que as dietas hipercalóricas/hiperlipídicas aumentaram o peso do tecido adiposo retroperitoneal e omental em relação à dieta controle. O exercício reduziu significativamente o peso do tecido omental do grupo controle.

Tabela 3- Peso dos tecidos (g) omental, retroperitoneal e inguinal dos animais sedentários (S) e exercitados (E) alimentados com dieta baru (B), chocolate (CHO) e controle (C).

Peso tecidos (g)				
TECIDOS		Omental	Retroperitoneal	Inguinal
Grupos	N	Média±DP	Média±DP	Média±DP
BE	6	4,49± 1,50 ^a	7,89±2,24 ^a	0,80± 0,29 ^a
BS	9	3,38± 1,29 ^a	6,91±2,56 ^a	1,25± 0,26 ^a
CHOE	9	3,59±1,76 ^a	6,38±1,77 ^a	0,67± 0,17 ^a
CHOS	10	2,71± 1,11 ^a	5,53±2,84 ^a	0,88± 0,62 ^a
CE	4	1,74± 0,41 ^b	2,41±0,65 ^b	0,71± 0,34 ^a
CS	4	2,17± 0,54 ^a	2,53±0,78 ^b	0,60± 0,05 ^a

a≠b (p<0,05); DP=Desvio padrão

A tabela 4 mostra que o exercício foi eficiente em reduzir a área de células do tecido adiposo omental e inguinal do grupo chocolate e inguinal no controle. O

grupo exercitado e alimentado com dieta baru apresentou maior área de adipócitos no que se refere aos tecidos retroperitoneal e inguinal em relação aos seus pares sedentários. Todas as dietas hipercalóricas/hiperlipídicas aumentaram a área de adipócitos do tecido retroperitoneal em comparação ao grupo controle.

Tabela 4- Área de adipócitos (μm^2) dos tecidos omental, retroperitoneal e inguinal dos animais sedentários (S) e exercitados (E) alimentados com dieta baru (B), chocolate (CHO) e controle (C).

Área de adipócitos				
TECIDO		Omental (μm^2)	Retroperitoneal (μm^2)	Inguinal (μm^2)
Grupos	N	Média±DP	Média±DP	Média±DP
BE	4	6.471,04±3412,29 ^a	18.286,56±12.344,85 ^a	4.480,08± 3.442,84 ^a
BS	4	7.482,62±5836,58 ^a	11.378,45±12.695,21 ^b	3.259,32±3.273,79 ^{bd}
CHOE	4	6.370,91±7776,13 ^b	8.715,90±7.300,99 ^b	5.147,49±5.712,71 ^{ab}
CHOS	4	7.341,28±5862,24 ^a	8.549,01±10.394,3 ^b	7.083,11± 7.682,40 ^c
CE	4	4.300,62±3603,44 ^b	6.031,03±6.133,87 ^c	2.212,87± 1.920,34 ^e
CS	4	5.099,05±4642,03 ^b	6.835,89±6.328,56 ^c	3.386,11± 3.973,09 ^d

a≠b≠c≠d (p<0,05); DP=Desvio padrão

A tabela 5 evidencia que o conteúdo de triglicerídeos no fígado dos animais sedentários foi maior se comparado aos grupos exercitados e alimentados com as dietas hipercalóricas/hiperlipídicas (p<0,05), sendo que os valores dos grupos exercitados e alimentados com essas dietas não se diferenciaram dos apresentados pelos animais com dieta controle. O conteúdo de triglicerídeo hepático foi maior nos grupos hipercalórico\hiperlipidico sedentários em relação ao controle.

A dieta hipercalórica/hiperlipídica à base de baru promoveu maior deposição de triglicerídeos no músculo (P<0,05) dos animais sedentários e exercitados, quando comparados aos controles. O exercício promoveu deposição de triglicerídeos musculares nos animais do grupo chocolate com tendência a valores superiores para o exercício também nos grupos controle e baru (tabela 5).

A dieta à base de baru também promoveu aumento no conteúdo de glicogênio muscular dos animais exercitados e sedentários comparados aos

controles. O conteúdo de glicogênio hepático não foi alterado em função das dietas, embora tenha havido tendência a valores superiores no grupo baru. O exercício não modificou a concentração de glicogênio hepático e muscular dos animais (tabela 5).

Tabela 5- Glicogênio muscular e hepático, Triglicerídeos (TGL) muscular e hepático dos animais sedentários (S) e exercitados (E) alimentados com dieta baru (B), chocolate (CHO) e controle (C), Valores expressos em mg/100mg.

Substratos Teciduais		Glicogênio muscular mg/100mg	Glicogênio hepático mg/100mg	TGL muscular mg/100mg	TGL hepático mg/100mg
Grupos	N	Média±DP	Média±DP	Média±DP	Média±DP
BE	6	0,10± 0,03 ^a	0,99 ±0,71 ^a	32,29±5,40 ^a	0,88± 0,43 ^a
BS	9	0,08±0,07 ^a	0,44±0,34 ^a	29,39±12,97 ^a	1,36± 0,50 ^b
CHOE	9	0,06±0,06 ^{ab}	0,20±0,10 ^a	26,73±10,32 ^a	0,86± 0,41 ^a
CHOS	10	0,05± 0,04 ^{ab}	0,22±0,06 ^a	16,02±8,20 ^b	1,77±0,64 ^b
CE	4	0,01±0,01 ^b	0,17±0,02 ^a	18,85±3,94 ^b	0,55± 0,08 ^a
CS	4	0,02± 0,01 ^b	0,19±0,03 ^a	16,00±3,69 ^b	0,50± 0,25 ^a

a≠b (p<0,05); DP=Desvio padrão

Os dados apresentados na tabela 6 mostram que ambas as dietas e o exercício físico não alteraram as concentrações séricas de ácidos graxos livres em repouso em todos os grupos do estudo.

Tabela 6- Ácidos graxos livres séricos dos animais sedentários (S) e exercitados (E) alimentados com dieta baru (B), chocolate (CHO) e controle (C), expresso em mg/100mg.

Ácidos graxos livres (AGL) mg/100mg		
Grupos	N	Média±DP
BE	6	0,54±0,26 ^a
BS	9	0,58±0,15 ^a
CHOE	9	0,56±0,14 ^a
CHOS	10	0,69±0,18 ^a
CE	4	0,63±0,18 ^a
CS	4	0,71±0,08 ^a

a≠b (p<0,05); DP=Desvio padrão

A análise histopatológica do fígado, expressa na tabela 7, revela que em aproximadamente 80% dos animais sedentários tratados com dieta hiperlipídica, houve vacuolização lipídica no hepatócitos, o que caracteriza, morfológicamente, o quadro de fígado gorduroso não-alcoólico (esteatose hepática). A prevalência de esteatose foi maior nos grupos de animais sedentários alimentados com dieta hiperlipídica/hipercalórica em comparação aos controles (CHOS:83%>BS:80%>CS:50%).

A prevalência de esteatose no grupo sedentário com dieta controle foi superior à dos animais exercitados do grupo baru e idêntica aos animais do grupo chocolate exercitado (BE: 0%; CHOE:50%; CS:50%), mostrando que o treinamento físico preveniu a alteração hepática.

Tabela 7- Presença de esteatose hepática nos animais sedentários (S) e exercitados (E), alimentados com dieta baru (B), chocolate (CHO) e controle (C).

Grupos	<i>Esteatose Hepática</i>		
	Presente	Ausente	Total
	n(%)	n(%)	N
BE	0(0%)	5(100%)	5
BS	4(80%)	1(20%)	5
CHOE	2(50%)	2(50%)	4
CHOS	5(83%)	1(17%)	6
CE	1(25%)	3(75%)	4
CS	2(50%)	2(50%)	4

Na tabela 8, observa-se que grande parte das alterações foi considerada de intensidade moderada. Apenas um animal do grupo CHOE apresentou esteatose acentuada e um animal do grupo controle sedentário apresentou granulomas em espaço porta. Todos os grupos exercitados apresentavam menor prevalência de esteatose em relação aos seus pares sedentários. A análise histopatológica hepática que evidencia a intensidade da esteatose está representada na figura 29.

Tabela 8- Intensidade da esteatose hepática nos animais sedentários (S) e exercitados (E), alimentados com dieta baru (B), chocolate (CHO) e controle (C).

<i>Intensidade da esteatose</i>	<i>BE</i>	<i>BS</i>	<i>CHOE</i>	<i>CHOS</i>	<i>CE</i>	<i>CS</i>
	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)
Moderada	0(0%)	4(100%)	1(50%)	5(100%)	1(100%)	2(100%)
Acentuada	0(0%)	0(0%)	1(50%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)

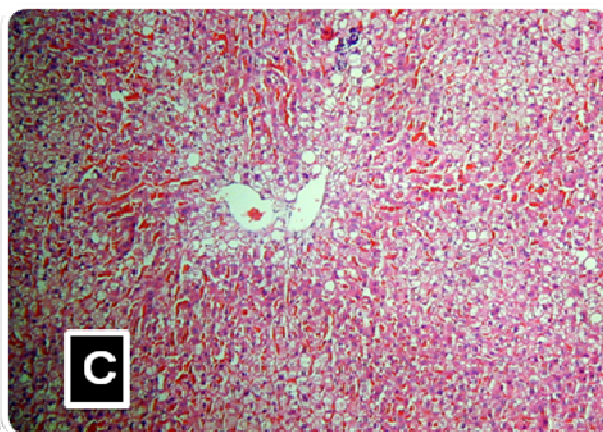
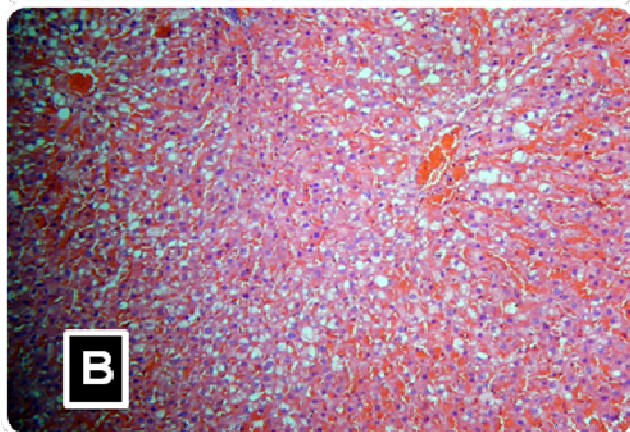
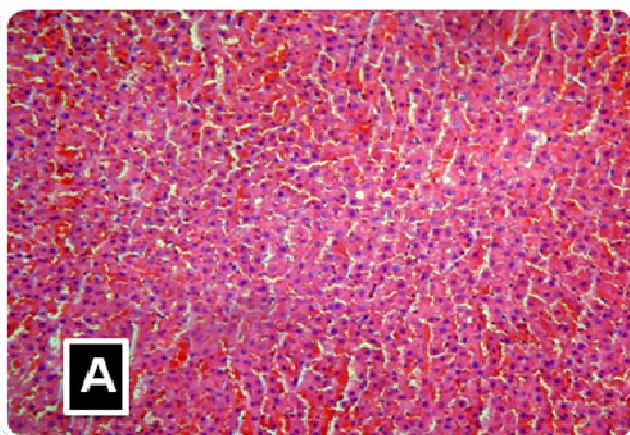


Figura 28- Análise histopatológica do fígado. O painel A) ilustra um corte histológico do fígado dos animais sem esteatose. No painel B) está ilustrado um corte histológico do tecido hepático dos animais com esteatose moderada. Já o painel C) ilustra um corte histológico do tecido hepático dos animais com esteatose acentuada. Coloração por hematoxilina e eosina, aumento microscópico de 100x.

6 DISCUSSÃO

A presente pesquisa mostrou que o exercício físico, na presença da dieta hipercalórica e hiperlipídica, promoveu mudanças significativas nos lipídios teciduais, além de prevenir o ganho de peso corporal dos animais submetidos ao protocolo de exercício.

Esses resultados corroboram os observados por Bernardes et al. (2004), Cheik et al. (2006) e Nunes (2008) que, após submeterem ratos alimentados com dieta hiperlipídica durante 5 e 8 semanas de treinamento aeróbico moderado (natação), respectivamente, observaram menor ganho de peso para o grupo exercitado em relação ao sedentário, demonstrando o efeito lipolítico do exercício de intensidade moderada e sugerindo que o treinamento físico pode atenuar os efeitos da dieta hipercalórica e hiperlipídica no sentido de promover a obesidade.

Estadella et al. (2004), em estudo realizado com ratos sedentários e exercitados, tratados com dieta hiperlipídica palatável ou dieta padrão, verificaram que os animais sedentários com dieta hiperlipídica tiveram significativamente maior ganho de peso corpóreo comparados aos controles sedentários, ao final de 8 semanas de experimento. Assim como ocorreu no presente estudo, no estudo de Estadella et al. (2004), o ganho de peso no grupo dos animais exercitados com dieta hiperlipídica foi similar ao do grupo sedentário com dieta padrão.

Nota-se, no presente estudo, que a obesidade nos animais alimentados com dieta hipercalórica/hiperlipídica pôde ser observada mesmo com a ausência de hiperfagia, uma vez que não houve diferença na ingestão calórica entre os animais das dietas chocolate e baru em relação aos animais com dieta controle submetidos ao mesmo tratamento (exercício ou sedentarismo).

Em diversos estudos com modelos animais, a adição de lipídios na dieta resultou em redução da ingestão e aumento do peso (AZAIN, 2004), enquanto que a atividade física promoveu maior consumo alimentar (+23%) (LAYE et al., 2006).

A redução do consumo alimentar de ratos e humanos, submetidos à dieta hiperlipídica, pode estar associada ao aumento da produção do hormônio anorexígeno leptina, pelos adipócitos, redução da sensibilidade à ação deste hormônio e redução da produção gástrica de grelina, hormônio orexígeno, responsável pelo aumento do apetite (ESTADELLA et al., 2004; BENATI; LANCHÁ JÚNIOR, 2007; MOTA; ZANESCO, 2007).

Em relação ao efeito modulador do exercício sobre estes hormônios, os resultados das pesquisas apresentam-se controversos, provavelmente em função dos diferentes protocolos de treinamento físico empregados nos estudos, do tempo de coleta após as sessões de exercício físico e pela diversidade no estado nutricional dos animais e seres humanos estudados (MOTA; ZANESCO, 2007).

A revisão de literatura publicada por Mota e Zanesco (2007) mostra que grande parte dos estudos aponta redução dos níveis de leptina e ausência de alteração nos níveis plasmáticos de grelina em resposta crônica aos exercícios aeróbios. Os níveis de grelina parecem responder mais à redução da ingestão de nutrientes e perda de peso corporal do que propriamente ao exercício físico (FOSTER-SCHUBERT et al, 2005).

Esse comportamento hormonal poderia explicar, pelo menos em parte, os resultados do presente estudo, pois apenas os animais que perderam peso, ou seja, os exercitados com dieta padrão, ingeriram maior quantidade de ração em relação aos seus pares sedentários.

No presente estudo, a administração da dieta hiperlipídica com extrato de baru, tanto para os animais sedentários quanto para os exercitados, causou aumento das células adiposas dos tecidos abdominal subcutâneo (retroperitoneal) e abdominal visceral (omental) quando comparada à dieta padrão. Os animais do grupo chocolate sedentário apresentaram área de adipócitos maior em relação aos controles em todos os tecidos analisados.

Tais resultados corroboram os achados de Chen e Farese (2002), os quais observaram que camundongos alimentados com dieta rica em lipídios (16%) durante 16 semanas, apresentaram área de adipócitos da região visceral 2,5 vezes maiores do que a do grupo controle.

A análise dos diferentes depósitos adiposos revela que os tecidos omental e retroperitoneal dos ratos sedentários submetidos à dieta hiperlipídica\hipercalórica apresentaram-se mais pesados quando comparados aos animais controles. O mesmo comportamento não ocorreu em relação ao tecido subcutâneo inguinal, embora tenha sido observada tendência a valores superiores nos animais sedentários com dieta hiperlipídica em relação aos seus pares controles.

Os resultados obtidos no presente estudo, os quais denotaram o acúmulo de tecido adiposo de forma predominante na região do abdômem após administração de dietas hipercalóricas e hiperlipídicas, estão de acordo com outros estudos dessa

natureza. A atividade da lipase de lipoproteína (LPL), enzima chave na deposição de gordura em vários compartimentos adiposos, bem como os níveis de RNAm da LPL são maiores nas células abdominais do que nas gluteais de indivíduos do sexo masculino, além disso, estes tecidos apresentam maior expressão das proteínas transportadoras de ácidos graxos (FATPs) (WAJCHENBERG, 2000; SHADID et al, 2007)

De acordo com Nascimento et al. (2009), em ratos, dietas hiperlipídicas reduzem a atividade das enzimas lipogênicas e lipogêse no depósito inguinal e aumentam essas enzimas no tecido visceral. Este fato explicaria, em parte, a ausência de diferenças para o peso dos tecido inguinal entre os grupos de animais com dieta hiperlipídica ou normolipídica.

Além disso, os resultados do presente estudo, são semelhantes aos encontrados por Gollisch et al. (2009), onde sugerem que o exercício físico seja capaz de atenuar o ganho de peso de gordura em diferentes depósitos lipídicos. Os autores estudaram os efeitos do exercício físico voluntário na morfologia do tecido adiposo, de ratos alimentados precocemente com dieta rica em lipídios (60%) *versus* controle. Ao final de 4 semanas, ambos os depósitos adiposos (subcutâneo inguinal e parametrial visceral) foram maiores no grupo sedentário alimentado com dieta hiperlipídica em relação aos seus pares com dieta padrão. O grupo treinado alimentado com dieta hiperlipídica obteve menor ganho de peso dos tecidos adiposos em relação aos seus pares sedentários e não se diferenciou do treinado com dieta controle, sendo que a perda de gordura foi predominante no tecido visceral, nesse mesmo estudo.

No presente estudo, é importante ressaltar que, mesmo com consumo maior, o grupo controle exercitado apresentou tendência a menores valores de área de adipócitos em todos os tecidos, destacando-se, significativamente, o tecido adiposo subcutâneo inguinal. Além disso, o peso total do tecido adiposo omental foi menor ($p < 0,05$) nos animais controles exercitados em relação aos sedentários.

O exercício mostrou-se eficiente em reduzir a área de adipócitos no tecido omental e inguinal do grupo chocolate (CHOE < CHOS). Por outro lado, esse mesmo comportamento não foi reproduzido no tecido retroperitoneal, nem tampouco nos tecidos do grupo Baru, levantando a hipótese de que o extrato etéreo do Baru contenha fatores dietéticos que contribuam para a maior deposição de lipídios e/ou possam inibir os efeitos do exercício sobre os estoques adiposos corporais.

Em relação ao resultado observado no tecido retroperitoneal dos ratos, Pereira et al., (2003) apontam que dieta alta em lipídios parece reduzir a taxa de lipólise neste tecido, possivelmente em decorrência da diminuição dos receptores adrenérgicos nos animais.

Os resultados observados no grupo chocolate coadunam com os encontrados por Gollisch et al. (2009) citado anteriormente, os quais observaram menor área de adipócitos em função do exercício físico em ambos os depósitos, inguinal e parametrial de ratos alimentados com dieta hiperlipídica.

Esses achados também corroboram os de outro estudo (THOMAS et al., 2000), o qual mostra que é mais fácil mobilizar gordura abdominal visceral do que abdominal subcutânea com o exercício físico. O tecido adiposo visceral parece ser menos responsivo do que o subcutâneo abdominal ao estímulo antilipolítico e de reesterificação de ácidos graxos produzido pela insulina (GOLLISCH et al., 2009). Neste sentido, pode-se sugerir que na condição de ganho de peso, o acúmulo adiposo seria predominante no tecido abdominal subcutâneo e, na perda de peso, o efeito seria mais pronunciado no tecido visceral.

De fato, este resultado foi observado no presente estudo, uma vez que o peso do tecido adiposo retroperitoneal dos grupos alimentados com dieta hipercalórica foi superior ao dos animais controles. Nas condições onde o exercício físico promoveu a perda de gordura, este foi perceptível no tecido adiposo visceral (omental).

É conhecido que a obesidade e a ingestão de dietas hipercalóricas e hiperlipídicas podem causar hiperinsulinemia (FRAYN, 2000; JENSEN, 2008; NASCIMENTO et al., 2009) e que o exercício físico melhora, substancialmente, a sensibilidade das células à ação da insulina (PAULI, et al., 2009). Embora a concentração sérica de insulina não tenha sido avaliada no presente estudo sugere-se, com base em protocolos dietéticos semelhantes (CHEIK, 2005), que a mesma estava alta nos animais obesos do nosso estudo.

Vale ressaltar que a análise dos resultados fica comprometida, uma vez que são escassos os estudos desta natureza realizados com animais. Kanaley et al. (2007) afirmam que a perda de peso na região abdominal não se apresenta de maneira uniforme, ao passo que a variabilidade entre os indivíduos, por exemplo, é de 8 a 61%. Além disso, a perda de gordura abdominal desencadeada por

intervenções dietéticas e/ou com exercício varia por região do abdômen (KANALEY et al., 2007).

De acordo com Thomas et al. (2000), a interação entre as diferentes fontes de fornecimento de lipídios durante o exercício não foi, ainda, totalmente elucidada, uma vez que seu funcionamento permanece obscuro e disperso em trabalhos experimentais distintos. As aparentes diferenças a respeito dos efeitos dos exercícios sobre os depósitos de gordura podem ser em função de inúmeros fatores, incluindo metodologia para análises dos adipócitos, dieta, característica da amostra (ex. obesos ou eutróficos) e protocolos de exercício adotados, os quais variam de acordo com a frequência, intensidade e duração do esforço físico.

Em estudo realizado por Guerra et al. (2007), observou-se que o exercício efetuado em intensidade moderada e de maneira crônica (5 dias/semana) diminuiu significativamente os pesos relativos da adiposidade central (gordura retroperitoneal) e visceral (gordura epididimal) após a administração de duas dietas (dieta rica em lipídios e padrão) quando animais treinados foram comparados aos seus respectivos sedentários e alimentados com as mesmas dietas.

Em outro estudo, Eguchi et al. (2008) observaram que a dieta cafeteria elevou significativamente o peso dos tecido retroperitoneal e epididimal e, por sua vez, induziu a obesidade nos ratos. Por outro lado, o treinamento físico (natação, 5 dias/semana, 30min/sessão) minimizou os efeitos negativos atribuídos à dieta cafeteria, ou seja, o mesmo foi efetivo em reduzir tanto a adiposidade subcutânea abdominal como a visceral dos animais.

Torna-se importante destacar que nos dois estudos citados anteriormente a carga de exercício utilizada durante o esforço físico foi de 5% em relação à massa corporal dos animais, ou seja, superior à adotada em nosso estudo (2%).

Fiorese (2008) observou que ratos alimentados com dieta hiperlipídica bem como submetidos ao exercício físico (90min/dia, 5x/semana, durante 8 semanas) não apresentaram modificações nos tecidos adiposos brancos epididimal e retroperitoneal. Neste estudo, a carga de exercício suportada pelos animais foi de 3% em relação ao peso corporal, isto é, similar à utilizada em nosso estudo.

Desta forma, os resultados do presente estudo mostra que a intensidade de exercício, a que os animais foram submetidos, foi insuficiente no sentido de evitar o aumento da área dos adipócitos localizados na região abdominal subcutânea,

especificamente a porção retroperitoneal, dos animais alimentados com diferentes tipos de dieta.

Além da intensidade, a manipulação de outras variáveis inerentes à prescrição do exercício físico, como frequência e duração, pode produzir respostas metabólicas e morfológicas diferenciadas. No estudo realizado por Sutherland et al. (2009), os autores observaram redução significativa do conteúdo de gordura retroperitoneal e epididimal dos ratos submetidos à natação sem sobrecarga adicional (apenas o peso corporal), por 7 dias semana, 2 horas por sessão, durante 4 semanas. Nota-se que, neste estudo, a carga foi inferior à do presente estudo, entretanto, a duração e a frequência do exercício, foram superiores.

Neste estudo, observa-se que os valores referentes ao peso do tecido retroperitoneal dos animais alimentados com dieta hiperlipídica/hipercalórica foram maiores quando comparados aos obtidos nos animais controles com dieta normocalórica. No entanto, não houve diferença entre os grupos exercitados e sedentários alimentados com mesma dieta, fato este que possivelmente confirmaria a hipótese postulada acima.

O aumento da massa gorda levanta a questão sobre o quanto esse fator exponencial está associado ao excesso de energia consumida ou ao sedentarismo (LAYE et al., 2006). No presente estudo, parece que a dieta foi o principal determinante para o aumento da área de células e peso dos tecidos adiposos por nós analisados. O exercício físico agiu preferencialmente sobre os estoques de gordura na região omental dos ratos.

Este achado foi observado também por Laye et al. (2009), os quais mostraram que a atividade física voluntária (em roda de atividade) preveniu a hipertrofia e hiperplasia de células adiposas da região omental de ratos obesos. Nestes animais, a obesidade visceral reduziu o conteúdo de mitocôndrias no tecido omental e contribuiu para a progressão do diabetes *mellitus*, sendo que estes efeitos mostraram-se atenuados no grupo exercitado.

O fato de ter ocorrido reduções na área de células e no peso do tecido omental do grupo chocolate e controle exercitados é de grande relevância do ponto de vista clínico, uma vez que os estudos confirmam que a área de adipócitos do tecido visceral está positivamente associada à diversos indicadores metabólicos desfavoráveis em ambos os sexos, tais como resistência insulínica e inflamação sistêmica de baixo grau (TCHOUKALOVA et al., 2008).

A hipótese postulada por Gollisch et al. (2009) é de que a área de adipócitos aumentada indica que o tecido adiposo está saturado de lipídios, fato que elevaria o estoque de lipídios em outros órgãos, tais como músculo esquelético e fígado, causando, entre outros problemas, resistência insulínica nestes locais.

A contribuição da gordura visceral para a ocorrência de resistência insulínica parece estar mais relacionada à liberação das adipocinas do que ao fluxo de ácidos graxos livres no tecido muscular. O depósito visceral de gordura secreta maiores quantidades de IL-6 e PAI comparado ao subcutâneo (WAJCHENBERG, 2000), sendo que grande parte dos ácidos graxos que compõem o tecido visceral é liberada diretamente na veia porta, com consequente alteração do metabolismo e acúmulo de triglicerídeos no fígado (STEFAN et al, 2008.).

O presente estudo vai de encontro a essas hipóteses, uma vez que os animais pertencentes aos grupos sedentários e alimentados com dietas hiperlipídicas/hipercalóricas apresentaram maior conteúdo de triglicerídeo hepático e muscular em comparação aos ratos controles.

No presente estudo, a prevalência da esteatose hepática foi maior nos grupos de animais sedentários alimentados com dieta hiperlipídica/hipercalórica em comparação aos controles sob mesmo tratamento (tabela 7).

A densidade energética e a composição da dieta representam, em ordem de importância, os dois fatores primordiais para o acúmulo de gorduras no fígado (STEFAN et al., 2008). Os ácidos graxos saturados exercem efeito negativo sobre os hepatócitos, enquanto que a presença de ácidos graxos insaturados e antioxidantes dietéticos podem prevenir o acúmulo hepático de gorduras por exercerem efeitos antiinflamatórios e antilipogênicos (STEFAN et al., 2008; ANDERSON; BORLAC, 2008)

As duas dietas preparadas no presente estudo (baru e chocolate) apresentavam baixo conteúdo de lipídeos saturados e alta concentração de insaturados, conforme descrito anteriormente (figura 13). Entretanto, o conteúdo total de calorias e gorduras totais das dietas também apresentou-se elevado, sugerindo que a quantidade foi mais importante do que a qualidade dos lipídios na ocorrência da esteatose hepática não alcoólica nestes animais.

Esses achados coadunam-se aos expostos por Anderson e Borlac (2008), os quais sugerem que a sobrecarga de lipídios, independente do grau de saturação de suas moléculas, resulta em esteatose hepática.

A hipótese postulada anteriormente, da liberação de ácidos graxos pelo tecido adiposo visceral no sistema porta, explicaria em parte, as diferenças observadas no presente estudo em relação ao conteúdo hepático de lipídeos dos animais alimentados com ração hiperlipídica/hipercalórica *versus* ração normocalórica.

Stefan et al. (2008) também descrevem que o sedentarismo é um fator independente da dieta na determinação da esteatose hepática. No presente estudo, a análise histológica do fígado dos animais revela que o grupo sedentário alimentado com dieta padrão apresentou maior prevalência de esteatose, em comparação aos controles exercitados, confirmando a hipótese dos autores.

É interessante observar que o conteúdo de triglicerídeos hepáticos dos ratos exercitados submetidos a dieta hipelipídica/hipercalórica foi similar ao dos grupos com dieta padrão, mostrando que o treinamento aeróbico realizado em intensidade leve à moderada pode ser um fator protetor no combate ao acúmulo de gordura no fígado, mesmo na persistência da ingestão de dietas ricas em calorias e lipídios.

Esses achados corroboram os resultados de outros estudos, os quais observaram reduções significativas no conteúdo de triglicerídeos no fígado dos animais exercitados em intensidade leve à moderada (FIORESE, 2008) ou naqueles voluntariamente ativos (RECTOR et al., 2008).

A atenuação da esteatose hepática em resposta ao exercício físico parece estar associada ao aumento da oxidação e redução da síntese de ácidos graxos no fígado. O estudo de Rector et al. (2008) evidenciou que o treinamento físico melhorou a função mitocondrial hepática, especificamente, o acoplamento de elétrons da beta oxidação, Ciclo de Krebs e fosforilação oxidativa, resultando em uma degradação mais completa dos ácidos graxos no fígado dos ratos obesos.

O presente trabalho prima por importantes perspectivas no que se refere à saúde pública, uma vez que a esteatose hepática não alcoólica é mais frequente em indivíduos acometidos pela síndrome metabólica (MARCHESINI et al., 2003) e são justamente estes que apresentam maior dificuldade de realizar exercícios em intensidades mais elevadas.

O fator limitante no que se refere à comparação de diversos estudos (NUNES, 2008; BERNARDES et al., 2004; CHEIK et al., 2006) com os resultados obtidos por nós é que, nas referidas pesquisas, os animais foram submetidos ao treinamento de natação na intensidade de 5% do peso corporal, enquanto que no

presente estudo os animais foram exercitados com carga correspondente a 2% do peso corporal.

Sabe-se que cargas sub-limiais, neste caso “intensidade de 2%”, ocasionam maior oxidação de lipídios em relação aos carboidratos. Essa carga reduz a utilização de carboidrato para suprir as necessidades energéticas, resultando, assim, em poucas alterações na concentração de glicogênio tecidual (BROOKS; MERCIER, 1994; LIMA-SILVA et al., 2006). No presente estudo, apenas diferenças nas concentrações de triglicérides hepáticos (BE<BS; CHOE<CHOS) e musculares (CHOE > CHOS) foram encontradas, enquanto que as concentrações de glicogênio hepático e muscular permaneceram inalteradas após o treinamento físico.

Os resultados do presente estudo contrapõem-se aos observados por BERNARDES et al., (2004). Nesse estudo, ratos foram alimentados com dieta normocalórica ou hipercalórica à base de chocolate e submetidos ao treinamento de natação a 5% do peso corporal, e verificou-se que o treinamento físico aumentou o conteúdo de glicogênio muscular e hepático dos animais exercitados alimentados com ambas, dieta normo e hipercalórica, em relação aos seus pares sedentários, porém não a ponto de reverter a redução destes substratos provocada pela dieta hiperlipídica e hipercalórica. Nota-se que a intensidade adotada, a qual correspondeu ao limiar anaeróbio destes animais, foi superior à utilizada em no presente estudo.

Bernardes et al. (2004) e Duarte et al. (2006), sugerem que os efeitos benéficos do treinamento físico em promover uma rápida recuperação dos carboidratos são prejudicados pela dieta hiperlipídica. A dieta hiperlipídica está associada à redução na taxa de glicólise e da síntese de glicogênio (DUARTE et al., 2006).

De acordo com Bernardes et al. (2004), o fato da dieta hiperlipídica ter interferido na reposição do glicogênio dos ratos sedentários e exercitados evidencia o desenvolvimento de um mecanismo de defesa do animal, ao passo que este estocaria primeiramente energia na forma de substrato lipídico para ser utilizado em futuras sessões de exercício.

Este mecanismo parece não ter ocorrido no presente estudo, uma vez que os animais do grupo Baru apresentaram concentrações significativamente maiores de glicogênio muscular e tendência a aumento do glicogênio hepático em relação ao grupo controle. Além disso, o grupo chocolate apresentou valores expressivamente

superiores de glicogênio no músculo, embora não significativos comparados aos animais controle.

Esses resultados são semelhantes aos observados por Duarte et al (2006), Estadella et al. (2004) e Cheik (2006) e denotam um efeito poupador do glicogênio, promovido pela alta ingestão de lipídios. A hipótese de que ocorre maior utilização dos estoques lipídicos, esta provocada pela ingestão dietética destes nutrientes e/ou pela elevada oferta de ácidos graxos do tecido adiposo, pode reduzir a utilização dos carboidratos pelo músculo.

De acordo com Oliveira e Marins (2008), as dietas hiperlipídicas passaram a ser alvos de estudo das ciências do esporte pelo fato de que elas causariam uma série de adaptações metabólicas supostamente capazes de melhorar o desempenho físico, dentre as quais destacam-se, o armazenamento de glicogênio hepático, aumento da gliconeogênese, aumento do estoque de triglicerídeos no músculo, aumento da capacidade oxidativa mitocondrial, aumento da produção de cetonas e diminuição do uso de glicose.

Algumas destas adaptações, como por exemplo, o aumento dos estoques de glicogênio e triglicerídeos musculares, de fato, ocorreram no presente estudo. Além disso, supõe-se que a quantidade de calorias e, conseqüentemente, de substratos gliconeogênicos como glicerol e aminoácidos nas dietas Baru e chocolate, possa ter contribuído, também, para a síntese (gliconeogeniogênese) e o armazenamento do glicogênio nestes grupos de animais.

Contudo, muitas questões permanecem obscuras, tais como: há a possibilidade de o Baru conter algum fator dietético que auxilie na reposição do glicogênio muscular e que, dessa forma, poderia melhorar o desempenho físico em situação de dieta adequada às necessidades de energia? A composição dos açúcares da dieta pode ter determinado maior ou menor acúmulo de glicogênio muscular?

Sabe-se que açúcares simples ou de alto índice glicêmico provocam hiperglicemia posprandial com conseqüente hiperinsulinemia e alta captação tecidual da glicose (DÍAZ, et al. 2006). A dieta Nuvilab®, utilizada no presente estudo, não continha carboidratos simples em sua composição (dados fornecidos pelo fabricante-ANEXO VI), ao contrário das dietas Baru e Chocolate que continham sacarose e amido de milho, estes considerados de alto índice glicêmico os quais,

provavelmente, contribuíram para o maior estoque de glicogênio nos tecidos hepático e muscular.

O aumento nos níveis de triglicérides no tecido muscular dos ratos pertencentes ao grupo BE, BS e CHOE em relação ao controle caracteriza-se por ser uma adaptação à dieta e ao treinamento aeróbio de intensidade moderada, ou seja, em situações de exercício onde o coeficiente respiratório denota predominância do uso de lipídios como fonte energética, sugere-se que o aumento desse tipo de reserva intramuscular seja de extrema importância do ponto de vista metabólico (ZDERIC et al., 2004; LIMA-SILVA et al., 2006).

A maior oferta de lipídios, visando sua oxidação pelo tecido muscular, ocorre como forma de adaptação ao exercício aeróbio, o que contribui substancialmente para a melhora do desempenho atlético (SILVEIRA et al., 2004; TURCOTTE; FISHER, 2008). Zderic et al. (2004) demonstraram, em ciclistas, que dietas hiperlipídicas influenciam positivamente a concentração muscular de triglicérides e a oxidação de gorduras, sem necessariamente alterar a lipólise do tecido subcutâneo.

Ressalta-se que a oxidação de lipídios pode apresentar-se alta sem serem observadas, necessariamente, mudanças nas concentrações de ácidos graxos livres, procedentes do tecido adiposo, no sangue (ZDERIC et al., 2004). Os triglicerídeos intramusculares parecem ser os principais substratos responsáveis pela elevada oxidação e lipólise após dietas hiperlipídicas oferecidas por curto prazo (ZDERIC et al., 2004).

Entretanto esta hipótese parece ser mais aceitável na eutrofia. Neste sentido a ausência de alteração nos valores de ácidos graxos livres séricos no presente estudo parece estar mais relacionada à regulação da liberação dos AGL pelo tecido adiposo.

De acordo com McQuaid et al. (2011) o aumento da massa adiposa induz uma redução da liberação de AGL por unidade de tecido adiposo na tentativa de manter a homeostase, garantindo a manutenção das concentrações sanguíneas em níveis fisiológicos.

Os resultados do presente estudo sugerem que o treinamento físico realizado em intensidade leve à moderada promove ajustes fisiológicos no metabolismo de lipídios mesmo na persistência da dieta hipercalórica e hiperlipídica, o que demonstra que alguns efeitos benéficos à saúde parecem ser independentes de modificações dietéticas.

Infelizmente, são escassos na literatura estudos que verificaram o efeito do exercício físico leve à moderado, ou seja, em intensidade sub-limiar, sobre o perfil metabólico de ratos alimentados com dietas hiperlipídicas.

Todos os benefícios supracitados foram possíveis a partir da aplicação do treinamento em intensidade sub-limiar, remetendo ao fato de que as atividades físicas de baixa intensidade também promovem alterações positivas relacionadas à saúde. Desta forma, os resultados do presente estudo apontam para o fato de que a intensidade para que ocorram ganhos em saúde, é diferente da necessária para aquisição de condicionamento ou *performance* física.

O fato de a dieta hiperlipídica, à base de extrato de baru, ter produzido efeitos contrários ao esperado, levanta a necessidade de análises mais apuradas quanto à comprovação de suas alegações funcionais. Algumas substâncias presentes no extrato, além dos ácidos graxos insaturados, podem, de alguma forma, ter interferido nos resultados obtidos.

A adição de óleo purificado de baru à uma dieta isocalórica, ao invés da dieta hiperlipídica/hipercalórica, utilizada por nós, poderia produzir resultados distintos e, hipoteticamente, benéficos à saúde ou ao desempenho físico, como é o caso de muitos óleos extraídos de castanhas.

Outra limitação do estudo refere-se à escassez de pesquisas as quais utilizaram os tecidos adiposos omental e inguinal, fato que pode ter comprometido nossas comparações. Não existe, descrita na literatura, técnica considerada como “padrão-ouro” para a mensuração da área de adipócitos, ao passo que o tetróxido de ósmio, utilizado para esse fim neste estudo, parece superestimar os resultados (CHEN; FARESE JR, 2002).

CONCLUSÃO

O exercício preveniu o ganho excessivo de peso corporal nos ratos alimentados com dieta hiperlipídica/hipercalórica. A associação exercício + dieta normocalórica foi a que produziu melhores resultados em relação ao peso corporal dos animais.

Os tecidos abdominais foram os mais sensíveis à dieta hiperlipídica se comparado ao subcutâneo periférico.

Os efeitos do exercício aeróbio, realizado em intensidade leve à moderada, foram significativos e mais pronunciados na redução dos depósitos adiposos visceral e inguinal dos animais alimentados com dieta controle e chocolate. Esse mesmo comportamento não foi reproduzido nos ratos com dieta à base de extrato de baru.

Os animais exercitados apresentaram menor conteúdo de triglicerídeos hepáticos e prevalência de esteatose hepática do que seus pares sedentários, mesmo na persistência do consumo excessivo de calorias e lipídeos dietéticos.

REFERÊNCIAS

ACSM. American College of Sports Medicine and the American Heart Association. Haskell WL, Lee I, Pate LL, Powell KE, Blair SN, Franklin BA, *et al.* Physical Activity and Public Health. *Circulation*. 2007; 16(9):1081-93.

Alaniz MHF, Takada J, Vale MICA, Lima FB. Adipose tissue as an endocrine organ: from theory to practice. *J Pediatr*. 2007;83(5):192-203.

Anderson N, Borlak J. Molecular Mechanisms and Therapeutic Targets in Steatosis and Steatohepatitis. *Pharmacol Rev*. 2008;60:311–357.

AOYAMA, T. *et al.* Soy protein isolate and its hydrolysate reduce body fat of dietary obese rats and genetically obese mice (yellow kk). *Nutrition*. 2000;16:349.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. [www.anvisa.gov.br]. Brasil: Alimentos. Comissões e Grupos de Trabalho. Comissão Tecnocientífica de Assessoramento em Alimentos Funcionais e Novos Alimentos. Alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, Novos Alimentos/Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos. [Atualizado em 11 de janeiro de 2005; Acesso em: 1 set. 2009]. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno.htm>.

A.O.A.C. Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis of the Association Official the Analytical Chemists. 12 ed. Washington; 1992.

Azain, MJ. Role of fatty acids in adipocyte growth and development. *J Anim Sci*. 2004; 82:916-924.

Barroso SG, Abreu VG, Francischetti EA. A participação do tecido adiposo visceral na gênese da hipertensão e doença cardiovascular aterogênica. Um conceito emergente. *Arq Bras Cardiol*. 2002; 78(6):618-30.

Bernardes D, Manzoni MSJ, Souza CP, Tenório N, Dâmaso AR. Efeitos da dieta hiperlipídica e do treinamento de natação sobre o metabolismo de recuperação ao exercício em ratos. *Rev. Bras. Educ. Fís. Esp*. 2004;18(2):191-200.

Benatti F, Lancha Junior AH. Leptina e exercício físico aeróbio: implicações da adiposidade corporal e insulina. *Rev Bras Med Esporte*. 2007;13(4):263-269.

Brandão MGL, Paula-Souza J, Graef CFF, Scalon V, Santos ACP, Salimena MF, Monte-Mor RLM. Biodiversidade, uso tradicional de plantas medicinais e produção de fitoterápicos em Minas Gerais. [www.cedeplar.ufmg.br/]. Cedeplar: Centro de Desenvolvimento e Planejamento Regional de Minas Gerais. [acesso em 10 out 2010]. Disponível em: http://www.cedeplar.ufmg.br/seminarios/seminario_diamantina/2010/D10A022.pdf.

Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Métodos físico-químicos para análises de alimentos. Brasília: Ministério da Saúde, 2005.

Brasil. Ministério da Saúde. Sistema Nacional de Vigilância de Doenças e Agravos não Transmissíveis- SINDANT. 2002 [acesso em 10 janeiro 2007]. Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/svs/area.cfm?id_area=448.

Brasil. Ministério da Saúde. Análise da estratégia global para alimentação saudável, atividade física e saúde. 2004 [atualizada 2007 acesso em 10 janeiro de 2010]. Disponível em: http://dtr2004.saude.gov.br/nutricao/documentos/doc_eg_final_submetido.pdf.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Secretaria de Gestão Estratégica e Participativa. Vigitel Brasil 2008: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Secretaria de Gestão Estratégica e Participativa. Brasília: Ministério da Saúde, 2009. 112.p. [acesso em 12 fev 2010] Disponível em: www.saude.gov.br/svs.

Brooks GA, Mercier J. Balance of carbohydrate and lipid utilization during exercise: The “crossover” concept. *J Appl Physiol*. 1994;76(6):2253-61.

Calle EE, Kaaks R. Overweight, obesity and cancer: epidemiological evidence and proposed mechanisms. *Nat Rev Cancer*. 2004;(4): 579-591.

Carvalho JBC. Saad MJA. Doenças associadas à resistência à insulina/ hiperinsulinemia, não incluídas na síndrome metabólica. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2006;50(2): 360-367.

Centro de produção, pesquisa e capacitação do cerrado. (CEPPEC). Mato Grosso do Sul; 2008 [atualizada em 18 dezembro 2008; acesso em 12 março de 2010].Disponível em: <http://www.ceppec.org.br/noticia.php?id+64> .

Cinti S. The adipose organ. Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids. 2005. Monograph (University of Ancona), Italy, European Union, 2005.

Ciolac EG, Guimarães GV. Exercício físico e síndrome metabólica. *Rev Bras Med Esporte*. 2004;10(4):319-324.

Coelho CF, Burini RC, Atividade física para prevenção e tratamento das doenças crônicas não transmissíveis e da incapacidade funcional. *Rev Nutr*. 2009;22(6): 937-946.

Contarteze, RVL, Manchado FB, Gobatto CA, Mello MAR. Biomarcadores de estresse em ratos exercitados por natação em intensidades igual e superior à máxima fase estável de lactato. *Rev Bras Med Esport*. 2007;13(3):169-174.

Corcoran, MP. Lamon-Fava. S. Fielding, RA. Skeletal muscle lipid deposition and insulin resistance: effect of dietary fatty acids and exercise. *Am J Clin Nutr*. 2007;85:662–77.

Curi R, Pompeia C, Miyasaka CK, Araújo Filho JP. Entendendo a Gordura. Os Ácidos Graxos. São Paulo,1ed.: Manole, 2002.

Cheik NC, Guerra RLF, Viana FP, Rossi EA, Carlos IZ, Vendramini R, et al. Efeito de diferentes frequências de exercício físico na prevenção da dislipidemia e da obesidade em ratos normo e hipercolesterolêmicos. *Rev. Bras. Educ. Fís. Esp.* 2006;20(2):121-29.

Cheik, N. Efeitos de diferentes intervenções nutricionais e do exercício físico sobre a regulação hormonal da ingestão alimentar e do metabolismo lipídico em ratos [tese]. São Carlos: Universidade Federal de São Carlos; 2005.

Chen HC, Farese Jr RV. Determination of adipocyte size by computer image analysis. *J. Lipid Res* 2002;43:986-989.

Dâmaso AR. Efeitos do exercício agudo e crônico sobre o metabolismo lipídico e a celularidade adiposa de ratas no período de lactação e após o desmame. [Tese]. São Paulo: Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo; 1996:120p.

David EKF, Leland T, Fred T, Trina H, Bret HG. Subdivisions of subcutaneous abdominal adipose tissue and insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2000;278:941–948.

Díaz EO, Galgani JE, Aguirre CA.. Glycaemic index effects on fuel partitioning in humans. *Obes Rev.* 2006;7:219–226.

Duarte ACGO, Fonseca DF, Manzoni MSJ, Soave CF, Sene-Fiorese M, Damaso AR, et al. Dieta Hiperlipídica e capacidade secretória de insulina em ratos. *Rev. Nutr.* 2006;19(3):341-348.

DHHS. U.S. Department of Health and Human Services. Dietary guidelines for americans, [cited 2007 Oct 1]. Disponível em. <http://www.healthierus.gov/dietaryguidelines>.

Enevoldsen LH, Stallknecht, B, Fluckey JD, Galbo h. Effect of exercise training on in vivo lipolysis in intra-abdominal tissue in rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2000; 279:585-592.

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.

Eguchi R, Cheik NC, Oyama LM, Nascimento CMO, Mello MT, Tufik S, Damaso A. Efeitos do Exercício Cronico Sobre a Concentracao Circulante da Leptina e Grelina em Ratos com Obesidade Induzida por Dieta. *Rev Bras Med Esporte.* 2008;14:182-187.

Fiorese MS. Efeitos do exercício acumulado sobre o controle da adiposidade visceral, leptinemia e gordura hepática em ratos alimentados com dieta hiperlipídica. [Tese]. São Carlos: Universidade Federal de São Carlos; 2008; 90 p.

Fonseca-Alaniz MH, Takada J, Alonso-Vale MIC, Lima FB. Adipose tissue as an endocrine organ: from theory to practice. 2007;83(5):192-203.

Foster-Schubert KE, McTiernan A, Frayo RS, Schwartz RS, Rajan KB, Yasui Y, et al. Human Plasma Ghrelin Levels Increase during a One-Year Exercise Program. Clin. Endocrinol. Metab. 2005;90:820-825.

Frayn, K.N. Visceral fat and insulin resistance – causative or correlative? British Journal of Nutrition. 2000;(83):71–77.

Freire RMM, Farias SR, Narain N, Moreira RA, Santos RC Aminoácidos e ácidos graxos em genótipos de amendoim do grupo Virgínia. Rev. ol. fibras. 2001;5(1):273-281.

Gaal LfV, Mertens IL, De Block CE. Mechanisms linking obesity with cardiovascular disease. NATURE. 2006;444(14):875-880.

Guarim Neto GO. Saber tradicional pantaneiro: as plantas medicinais e a educação ambiental. Rev. eletrônica Mestr. Educ. Ambient. ISSN 1517-1256, v.17, julho a dezembro de 2006. Disponível em: <http://www.remea.furg.br/edicoes/vol17/art34v17a5.pdf>.

Gobatto CA, Mello, MAR, Sibuya CY, Azevedo JRM, Santos LA, Kokubun E. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. Comparative Biochemistry and Physiology. 2001;130(1):21-27.

Gobatto CA, Manchado FB, Voltarelli FA, Contarteze RVL, Mello MAR. Non-invasive critical load determination in swimming rats: effects of muscle glycogen depletion. Med. Sci. Sports Exerc, 2005;37(5):S331.

Gobatto CA, Mello MAR, Manchado-Gobatto FB, Papoti M, Voltarelli FA, Contarteze RVL, et al. Avaliações fisiológicas adaptadas a roedores: aplicações ao treinamento em diferentes modelos experimentais. Revista Mackenzie de Educação Física e Esporte. 2008;7(1):137-147.

Gollisch KSC, Brandauer J, Jessen N, Toyoda T, Nayer A, Hirshman MF, Goodyear LJ. Effects of exercise training on subcutaneous and visceral adipose tissue in normal- and high-fat diet-fed rats. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2009; 297:495-504.

Guerra RLF, Prado WL, Cheik NC, Viana FP, Botero JP, Vendramini RC, et al. Effects of 2 or 5 consecutive exercise days on adipocyte area and lipid parameters in Wistar rats. Lipids in Health and Disease 2007, 6: 01-08.

Hernsdorff HMM, Monteiro JBR. Gordura Visceral, Subcutânea ou Intramuscular: Onde está o problema? Arq. Bras. Endocrinol. Metab. 2004;48(6):803-811.

Hirsch J, Gallian E. Methods for the determination of adipose cell size in man and animals. Journal of Lipid Research. 1968;9:110-119.

Hooper L, Summerbell CD, Higgins JPT, Thompson RL, Capps NE, Smith GE, Riemersma RA, Ebrahim S. Dietary fat intake and prevention of cardiovascular disease: systematic review. 2001;322: 757-763.

Ikeda AA, Moraes A, Mesquita G. Considerações sobre tendências e oportunidades dos alimentos funcionais. Revista P&D em Engenharia de Produção V. 2010;8(2):40-56. Disponível em http://www.revista-ped.unifei.edu.br/documentos/V08N02/v8n2_artigo_03.pdf.

Jesen MD. Role of Body Fat Distribution and the Metabolic Complications of Obesity. J Clin Endocrinol Metab. 2008;93(11):S57-S63.

Kanaley JA, Giannopoulou I, Ploutz-Snyder LL. Regional differences in abdominal fat loss. International Journal of Obesity. 2007;31:147–152.

Karnikowski M, Córdova C, Oliveira RJ, Karnikowski MGO, Nóbrega OT. Non-alcoholic fatty liver disease and metabolic syndrome in Brazilian middle-aged and older adults. Sao Paulo Med J. 2007; 125(6):333-337.

Kater CE. Obesidade: Genética, fisiopatologia e terapêutica às vésperas de uma importante revolução conceitual. Arq Bras Endocrinol Metab. 2000;44(1):1-3.

Katzmarzyk PT, Church TS, Janssen I, Ross R, Blair N. Metabolic syndrome, obesity, and mortality. Diabetes Care. 2005; 28(2):391–397.

Kiss ACI, Takaku M, Damasceno DC, Campos KE, Sinzato YK, Lima PO, et al. Efeito do extrato aquoso de *Allium sativum* L. sobre parâmetros bioquímicos de ratas com diabetes induzido por Streptozotocin. Rev Bras Pl Med. 2006;8(3):24-30.

Koutsari C, Jensen MD. Free fatty acid metabolism in human obesity. Journal of Lipid Research. 2006; 47:1643-1650.

Laye MJ, Thyfault JP, Stump CS, Booth FW. Inactivity induces increases in abdominal fat. J Appl Physiol 2006;102:1341–1347.

Laye MJ, Rector S, Warner SO, Naples SP, Perretta AL, Uptergrove GM. et al. Changes in visceral adipose tissue mitochondrial content with type 2 diabetes and daily voluntary wheel running in OLETF rats. J Physiol. 2009;587(14):3729–3739.

Leon AS. Biological mechanisms for the cardioprotective effects of aerobic exercise. American Journal of Lifestyle Medicine. 2009;3(1):31-33.

Lima-Silva AE, Adami F, Nakamura FY, De-Oliveira RF, Gevaerd MS. Metabolismo de gordura durante o exercício físico: mecanismos de regulação. Rev. Bras. Cineantropom. Desempenho Hum. 2006;8(4):106-114.

Lo Siu, Russel JC, Taylon AW, Determination of glycogen in small tissue samples, J Applied Physiol. 1970;28(2):234-236,

Lorenzi H. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil. Instituto Plantarium. 4ed. São Paulo. Nova Odesa: Editora Plantarum; 2002.

Marchesini G, Bugianesi E, Forlani G, Cerrelli F, Lenzi M, Manini R, et al. Nonalcoholic fatty liver, steatohepatitis, and the metabolic syndrome. *Hepatology*. 2003;37:917-923.

Marwick TH, Hordern MD, Miller T, Chyun DA, Bertoni AG, Blumenthal RS. et al. Exercise training for type 2 Diabetes Mellitus impact on cardiovascular risk: A Scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*. 2009;119:3244-3262.

Manchado FB, Gobatto CA, Voltarelli FA, Mello MAR. Non-exhaustive test for aerobic capacity determination in swimming rats. *Applied Physiology, Nutrition and Metabolism*. 2006;31(6):731-736.

Mestek ML. Physical activity, blood lipids, and lipoproteins. *American Journal of Lifestyle Medicine*. 2009;3:279-283.

Monteiro MF, Sobral Filho, DC. Exercício físico e o controle da pressão arterial. *Rev Bras Med Esporte*. 2004;10(6): 513-516.

Moraes FP, Colla LM. Alimentos funcionais e nutraceuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. *Revista Eletrônica de Farmácia*. 2006;3(2):99-112.

Mota GR, Zanesco A. Leptina, Ghrelina e Exercício Físico. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2007;51(1):25-33.

McQuaid SE, Hodson L, Neville MJ, Dennis AL, Cheeseman J, Humphreys SM, et al,. Downregulation of adipose tissue fatty acid trafficking in obesity: a driver for ectopic fat deposition? *Diabetes*. 2011;60(1):47-55.

Murray RK, Granner DL, Mayes PA, Rodwell VW. Harper: Bioquímica. São Paulo: Atheneu, 2002. 919p.

Nascimento CMO, Ribeiro EB, Oyama L. Metabolism and secretory function of white adipose tissue: effect of dietary fat. *An Acad Bras Cienc*. 2009;81(3):453-466.

Nogueira DM, Strufaldi B, Hirata MH, Abdalla DSP, Hirata RDC. Métodos de Bioquímica Clínica Técnica e Interpretação. São Paulo: Pancast; 1990.

Nunes JLB. Impacto da prática da atividade física e do consumo de dieta hiperlipídica em modelo experimental. [Dissertação]. São Paulo: Departamento de Alimentos e Nutrição da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista de Botucatu; 2008. 66p. Disponível em: www.fcfa.unesp.br/posgraduacao/alimentosenutricao/.../2008/jose_luiza_botton_nunes-completo.pdf. Acesso em: 02 jan. 2010.

OMS. Organização Mundial da Saúde. Estratégia global em alimentação saudável, atividade física e saúde. 57ª Assembléia Mundial de Saúde: Organização Mundial da Saúde; 2004. [acesso em 10 janeiro 2009]. Disponível em: http://dtr2004.saude.gov.br/nutricao/documentos/eb_portugues.pdf.

Okura T, Nakata Y, Yamabuki K, Tanaka K. Regional body composition changes exhibit opposing effects on coronary heart disease risk factors. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004;24:923-929.

Oliveira GTC, Marins JCB. Práticas dietéticas em atletas: especial atenção ao consumo de lipídios. *R. Bras. Ci e Mov*. 2008;16(1):77-88.

Oliveira NA, Silva AC, Rosado SCS, Rodrigues EAC. Variações genéticas para características do sistema radicular de mudas de baru (*dipteryx alata vogel*). *R. Árvore*. 2006;30(6):905-909.

Oliveira M. Perfil metabólico de ratos tratados com extrato de baru, submetidos a exercícios físicos. [Dissertação]. Campo Grande/MS: Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento da Região Centro-Oeste da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul; 2009.

Pauli JR, Cintra DE, Souza CT, Ropelle ER. Novos mecanismos pelos quais o exercício físico melhora a resistência à insulina no músculo esquelético. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2009;53(4):399-408.

Pereira LO, Francischi RP, Lancha Jr. AH. Obesidade: Hábitos Nutricionais, Sedentarismo e Resistência à Insulina. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2003;47/2:111-127

Pinheiro ARO, Freitas SFT, Corso ACT. Uma abordagem epidemiológica da obesidade. *Rev. Nutr*. 2004;17:523-533.

Pott A, Pott VJ. Plantas do Pantanal. Corumbá, MS: Embrapa, 1994.

Rector RS, Thyfault JP, Morris RT, Laye MJ, Borengasser SJ, Booth FW, Ibdah JA. Daily exercise increases hepatic fatty acid oxidation and prevents steatosis in Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2008;294:619-626.

Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing Committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutrit*. 1993;123(10):1939-1952.

Reilly MP, Rader DJ. The Metabolic Syndrome: More Than the Sum of Its Parts? *Journal of the American Heart Association*. 2003;108:1546-1551.

Ribeiro JL, Oliveira AR. Efeitos do exercício e do treinamento físico na hemostasia. *Rev. bras. hematol. hemoter*. 2005;27:213-220.

Rique ABR, Soares EA, Meirelles CM. Nutrição e exercício na prevenção e controle das doenças cardiovasculares; *Rev Bras Med Esporte*. 2002;8(6):244-254.

Sano SM, Ribeiro JF, Brito MA. Barú: biologia e uso. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2004. [acesso em 02 abril 2007]. Disponível em: http://bbeletronica.cpac.embrapa.br/2004/doc/doc_116.pdf.

Sampaio-Barros MM. Effect of swimming session duration and repetition on metabolic markers in rats. *Stress*. 2003;(6):127-32.

Shadid S, Koutsari C, Jensen M D. Direct Free Fatty Acid Uptake Into Human Adipocytes In Vivo. Relation to Body Fat Distribution. *DIABETES*. 2007;56:(5):1369-75.

Silva AEL, Adami F, Nakamura FY, Oliveira FR, Gevaerd, MS. Metabolismo de gordura durante o exercício físico: mecanismos de regulação. *Rev. Bras.Cineantropom. Desempenho Hum*. 2006;8(4):106-114.

Silveira LR, Alves AA, Denadai BS. Efeito da lipólise induzida pela cafeína na performance e no metabolismo de glicose durante o exercício intermitente. *R. bras. Ci e Mov*. 2004;12(3):21-6.

Sutherland LN, Bomhof MR, Capozzi LC, Basaraba SAU, Wright DC. Exercise and adrenaline increase PGC-1 α mRNA expression in rat adipose tissue *J Physiol*. 2009; 587(7):1607–1617.

SBD. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes. Tratamento e acompanhamento do diabetes mellitus. [www.diagraphic.com.br]. Rio de Janeiro: Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes; 2006 [acesso em 25 jan 2011]. Disponível em: <http://www.diabetes.org.br/educacao/docs/diretrizes.pdf>.

SBH. Sociedade Brasileira de Hipertensão. I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica. *Arq Bras Cardiol*. 2005;84(1):3-28. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/abc/v84s1/a01v84s1.pdf>. Acesso em: 28 jan. 2011.

SBC. Sociedade Brasileira de Cardiologia. IV Diretriz Brasileira Sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. *Arq Bras Cardiol* 2007;88(1):1-19. [acesso em 02 abril 2010]. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0066-782X2007000700002&script=sci_arttext&tlng=en.

Stefan N, Kantartzis K, Haering, Hans-Ulrich. Causes and metabolic consequences of fatty liver. *Endocrine Reviews*, December. 2008;29(7):939–960.

Takemoto E, Okada IA, Garbelotti ML, Tavares M, Aued-Pimentel S, Composição química da semente e do óleo de baru (*Dipteryx alata Vog.*) nativo do Município de Pirenópolis, Estado de Goiás. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 2001;60(2):113-117.

Tchoukalova YD, Koutsari C, Karpyak MV, Votruba SB, Wendland E, Jensen MD. Subcutaneous adipocyte size and body fat distribution. *Am J Clin Nutr* . 2008;87:56–63.

Thomas EL, Brynes AE, McCarthy J, Goldstone AP, Hajnal JV, Saeed N. et al. Preferential loss of visceral fat following aerobic exercise, measured by magnetic resonance imaging. *lipids*. 2000; 35(7):769-776.

Turcotte LP, Fisher JS. Skeletal muscle insulin resistance: roles of fatty acid metabolism and exercise. *Physical Therapy*. 2008;88(11):1279-96.

Voltarelli FA, Garcia I, Araujo MB, Moura LP. Exercício físico e processos inflamatórios. R. da Educação Física/UEM. "No prelo" 2010

Voltarelli FA, Gobatto CA, Mello MAR. Determination of anaerobic threshold in rats using the lactate minimum test. *Brazilian Journal of Medicine and Biological Research*. 2002;35:1389-1394.

Voltarelli FA, Mello MAR, Gobatto CA. Limiar Anaeróbio determinado pelo Teste do Lactato Mínimo em Ratos: Efeito dos Estoques de Glicogênio Muscular e do Treinamento Físico. *Revista Portuguesa de Ciências do Desporto*. 2004;4(3):16-25.

Wajchenberg BL. Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome. *Endocrine*. 2000;21(6):697–738.

Weiss R. Fat distribution and storage: how much, where, and how? *European Journal of Endocrinology*. 2007;157:39-45.

You T, Nicklas BJ, Ding J, Penninx BW, Goodpaster BH, Bauer DC. et al. The metabolic syndrome is associated with circulating adipokines in older adults across a wide range of adiposity. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2008;63(4):414-419.

Zderic TW, Davidson CJ, Schenk S, Byerley LO, Coyle EF. High-fat diet elevates resting intramuscular triglyceride concentration and whole body lipolysis during exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2004;286: 217-25.

ANEXOS

ARTIGO PUBLICADO**(ANEXO I)**

Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento.

ISSN 1981-9919 versão eletrônica

Periódico do Instituto Brasileiro de Pesquisa e Ensino em Fisiologia do Exercício

www.ibpex.com.br - www.rbone.com.br

Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento, São Paulo v.4, n.19, p.01-13, Jan/Fev. 2011. ISSN 1981-9919.

**DIFERENÇAS REGIONAIS NO TECIDO ADIPOSEO E SUA RELAÇÃO COM A
FISIOPATOLOGIA
DA SÍNDROME METABÓLICA E O EXERCÍCIO FÍSICO**