



UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA

FACULDADE DE MEDICINA

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE
BRASILEIRA**

Mariana Bolotari

**EFEITOS DE DIFERENTES TIPOS DE TREINAMENTO
FÍSICO NOS PARÂMETROS REPRODUTIVOS DE RATOS
WISTAR SUPERALIMENTADOS NA INFÂNCIA**

JUIZ DE FORA

2018

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA

MARIANA BOLOTARI

**EFEITOS DE DIFERENTES TIPOS DE TREINAMENTO
FÍSICO NOS PARÂMETROS REPRODUTIVOS DE RATOS
WISTAR SUPERALIMENTADOS NA INFÂNCIA**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-graduação em Saúde – Área de concentração em Saúde Brasileira da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Saúde.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Vera Maria Peters

JUIZ DE FORA

2018

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Bolotari, Mariana.

Efeitos de diferentes tipos de treinamento físico nos parâmetros reprodutivos de ratos Wistar superalimentados na infância. / Mariana Bolotari. -- 2018.

44 p. : il.

Orientadora: Vera Maria Peters

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Saúde Brasileira, 2018.

1. Obesidade. 2. Reprodução. 3. Metabolismo. 4. Programação Metabólica. I. Peters, Vera Maria, orient. II. Título.

Mariana Bolotari

Efeitos de diferentes tipos de tipos de treinamento físico nos parâmetros reprodutivos de ratos Wistar superalimentados na infância.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde, da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial a obtenção do grau de Mestre em Saúde. Área de concentração: Saúde Brasileira.

Aprovada em 9 de março de 2018.

BANCA EXAMINADORA



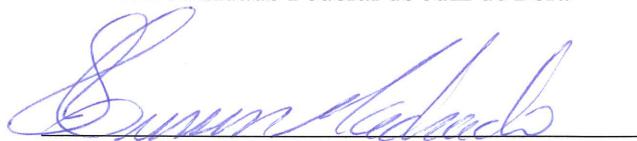
Dra. Vera Maria Peters - Orientador

Universidade Federal de Juiz de Fora



Dra. Martha de Oliveira Guerra

Universidade Federal de Juiz de Fora



Dr. Hussien Machado

Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde de Juiz de Fora

Dedico este trabalho aos meus pais Adriana Bolotari e Nelson Bolotari e ao meu irmão Nelson Bolotari Júnior.

Agradecimentos

Agradeço aos meus pais Adriana e Nelson, por todo amor e apoio em todos os momentos de minha vida. Ao meu querido irmão, Juninho, por tornar meus dias melhores.

Às Profs. Vera Maria Peters e Martha de Oliveira Guerra pelos ensinamentos e orientação durante minha formação acadêmica e pela oportunidade de crescimento pessoal e profissional.

À toda minha família pela torcida e amor que me depositam.

Ao Matheus por estar comigo em todos os momentos me apoiando, amando e me alegrando.

Aos meus amigos da faculdade (Álvaro, Mariana, Jéssica e Dani,) de infância (Laura, Carol, Gabi, Renata, Yandra, Glauce, Jéssica) e intercâmbio, pelos momentos de diversão e conversas.

Ao Centro de Biologia da Reprodução da Universidade Federal de Juiz de Fora (CBR/UFJF) pelo fornecimento das instalações, laboratórios, animais, funcionários para o desenvolvimento do projeto.

À toda equipe do CBR (pesquisadores, professores, técnicos, auxiliares de serviços geral, equipe do biotério) por me auxiliarem na execução desse projeto e pela amizade da convivência diária.

Ao Carlos Gabriel de Lade, Vinícios Moreira, Carolina Ribeiro e Beatriz Macedo pelo grande trabalho em equipe e pelo companherismo.

À Daniela Pereira, Marcella Terra, Flávia, Lorena Ribeiro, Samara Rodrigues, Ana Paula Lelis, Tamiris Scheiffer, Leonardo Oshio, Bárbara pela grande amizade.

À Professora Ana Elisa Andreazzi pelas sugestões e considerações para a realização desse trabalho.

À Deus por sempre me iluminar e me dar forças para conseguir atingir meus objetivos.

À Rede Mineira Bioterismo e de Toxicologia e Farmacologia (TOXIFAR/Fapemig) pelo financiamento do projeto e à FAPEMIG pela concessão da bolsa.

Resumo

A obesidade pode ter sua origem durante fases críticas de desenvolvimento, como o período de lactação, através da programação metabólica. Em modelos experimentais, a sobrenutrição na infância é estudada pelo método de redução de ninhada. Sendo a obesidade/sobrepeso condições importantes para o desenvolvimento de desordens metabólicas e reprodutivas, o nosso objetivo foi de avaliar os efeitos de duas modalidades de exercício físico em esteira (endurance e H.I.I.T) realizados em períodos de plasticidade metabólica nos parâmetros reprodutivos e metabólicos de indivíduos programados metabolicamente na infância pela superalimentação. Ratos machos Wistar foram divididos em dois grupos, um com o tamanho de ninhada padrão, com 10 machos por ninhada, que não foi submetido ao treinamento físico (NCSed) e outro com o tamanho da ninhada reduzida para quatro machos/ninhada, esses animais após o desmame foram subdivididos em três grupos: grupo sedentário (NRSed), grupo exercitado endurance (NREnd) e grupo exercitado H.I.I.T (NRHiit). Foram realizados testes metabólicos como o teste oral de tolerância à glicose, teste de tolerância à insulina, o perfil bioquímico desses animais também foi avaliado, assim como o peso, consumo, peso das gorduras retroperitoneal e perigonadal e dos órgãos dos componentes do sistema reprodutor masculino. A vitalidade, concentração, morfologia espermática e a organização estrutural do epidídimo e dos testículos também foram analisadas. O modelo de superalimentação por redução de ninhada foi eficaz para indução da obesidade, não alterando os parâmetros espermáticos nem a organização estrutural dos órgãos reprodutivos avaliados. Os grupos exercitados (NREnd e NRHiit) apresentaram menor gordura retroperitoneal, perigonadal, glicemia, e uma melhora na resistência à insulina e no teste de capacidade física, quando comparados com NCSed. Assim, sugerimos que a superalimentação na infância, induzida por redução de ninhada, não afeta a capacidade reprodutiva e que o exercício físico foi capaz de alterar alguns parâmetros, como o peso das gorduras e o metabolismo glicêmico, associados à síndrome metabólica observados nos animais adultos obesos neste modelo de programação.

Palavras chaves: Obesidade, programação metabólica, reprodução masculina, exercício físico

Abstract

Obesity may have its origin during critical stages of development, such as the lactation period, through metabolic programming. In experimental models, overfeeding in childhood is studied by the litter reduction method. Obesity/overweight were important conditions for the development of metabolic and reproductive disorders, our objective was to evaluate the effects of two physical exercise modalities (endurance and HIIT) performed in periods of metabolic plasticity in the reproductive and metabolic parameters of individuals programmed in childhood by overfeeding. Male Wistar rats were divided into two groups, one with standard litter size, with 10 males per litter, which was not submitted to physical training (NCSed) and the other with litter size reduced to four males / litters; were divided into three groups: sedentary group (NRSed), endurance exercised group (NREnd) and exercised group HIIT (NRHiit). Metabolic tests such as the oral glucose tolerance test, insulin tolerance test, the biochemical profile of these animals were also evaluated, as well as the weight, consumption, weight of retroperitoneal and perigonadal fats and organs of the components of the male reproductive system . Vitality, concentration, sperm morphology and structural organization of the epididymis and testis were also analyzed. The model of overfeeding by litter reduction was effective for obesity induction, without altering the sperm parameters nor the structural organization of the reproductive organs evaluated. The exercised groups (NREnd and NRHiit) presented lower retroperitoneal, perigonadal, glycemia, and an improvement in insulin resistance and physical capacity test when compared with NCSed. Thus, we suggest that overfeeding in childhood induced by litter reduction does not affect reproductive capacity and that physical exercise was able to change some parameters, such as fat weight and glycemetic metabolism, associated with the metabolic syndrome observed in adult animals obese in this programming model.

Key words: Obesity, metabolic programming, male reproduction, physical exercise

Sumário

1 INTRODUÇÃO.....	11
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	12
2.1 OBESIDADE.....	12
2.1.1 PROGRAMAÇÃO METABÓLICA.....	14
2.2 OBESIDADE E REPRODUÇÃO.....	16
2.3 OBESIDADE E EXERCÍCIO FÍSICO.....	19
3. HIPÓTESE.....	22
4.1 OBJETIVO GERAL.....	23
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	23
5. MATERIAL E MÉTODOS.....	24
5.1 Animais:.....	24
5.2 Procedimento experimental.....	24
5.2.1 Protocolo para redução de ninhadas.....	25
5.3 Consumo máximo de oxigênio e protocolo de treinamento	25
5.4. Teste oral de tolerância à glicose (TOTG).....	26
5.5. Avaliação de tolerância à insulina (TTI).....	27
5.6. Eutanásia.....	27
5.7. Avaliação do peso, ganho ponderal, consumo alimentar e pesagem dos órgãos	27
5.8. Contagem dos espermatozoides	28
5.9. Avaliação da vitalidade espermática	28
5.10. Avaliação da morfologia espermática	29
5.11. Processamento histológico.....	29
5.12. Análise Histométrica	30
5.13. Análise Estatística	32
6. RESULTADOS.....	33
6.1. Artigo submetido ao periódico 'The journal of physiology'	33
6.2. Artigo a ser submetido.....	34

6.3. Apresentações de trabalhos em congresso:.....	35
7. COMENTÁRIOS GERAIS.....	36
8. CONCLUSÕES.....	37
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	38
10. ANEXO	44

1 INTRODUÇÃO

A obesidade é um dos principais problemas de saúde pública da atualidade. Segundo a organização mundial de saúde (OMS) essa condição mais do que duplicou em todo mundo desde 1980, sendo considerada um fator de risco para o desenvolvimento de várias doenças, como diabetes mellitus tipo 2, hipertensão, dislipidemia, aterosclerose, doenças cardiovasculares, resistência à insulina e alguns tipos de câncer, tendo impacto na qualidade de vida e na longevidade da população (VAN DE SANDE-LEE; VELLOSO, 2012). A obesidade é uma condição em que o excesso de gordura corporal acumulada ocorre devido a fatores genéticos, físicos, sociais e comportamentais, afetando crianças, adolescentes e adultos (MOKDAD et al., 1999).

Os principais elementos que contribuem para o surgimento da obesidade são o estilo de vida e os fatores dietéticos. Evidências sugerem que a origem de alguns distúrbios metabólicos, que se manifestam na vida adulta, podem ter suas raízes antes do nascimento (OSMOND et al., 1993), através de mecanismo epigenéticos envolvidos na programação metabólica. A programação metabólica, um fenômeno pelo qual estímulos ambientais, nutricionais, hormonais ou psicológicos que atuam em períodos críticos da vida pré-natal e pós-natal, como a gestação e a lactação, podem influenciar, epigeneticamente, a maturação dos sistemas fisiológicos, influenciando a expressão gênica da prole (DE MOURA; PASSOS, 2005). Alterações nutricionais nesses estágios podem ser responsáveis por mudanças nas vias hipotalâmicas de controle do balanço metabólico e o equilíbrio energético (RINALDI et al., 2014) aumentando, dessa forma, a suscetibilidade ao desenvolvimento de patologias em longo prazo como diabetes mellitus tipo 2, obesidade, hipertensão, doença cardiovascular e vários tipos de câncer (WATERLAND; GARZA, 1999). Além disso, indícios apontam que a obesidade afeta negativamente a fertilidade masculina, através da alteração de níveis hormonais e pela redução da qualidade do espermatozoide, alterando a estrutura física e molecular das células germinais nos testículos e nos espermatozoides maduros (PALMER; W. BAKOS; et al., 2012).

O uso de modelo animal, como roedores, vem sendo utilizado nas pesquisas para o melhor compreensão da fisiopatologia e do tratamento da

obesidade (CESARETTI; KOHLMANN JUNIOR, 2006). Essa condição pode ser induzida em animais por meio de alterações neuroendócrinas, genética, dietéticas (BRESSAN MALAFAIA et al., 2013) e pela redução de ninhada (PLAGEMANN et al., 1999). O processo de redução da ninhadas para três ou quatro animais permite maior acesso a alimentação e, conseqüentemente, indução da obesidade nas crias (PORTELLA et al., 2015). Roedores provenientes de ninhadas reduzidas podem apresentar, na fase adulta, sobrepeso, obesidade, resistência à insulina, hiperinsulinemia e hiperleptinemia (BEI et al., 2015), hiperfagia, intolerância à glicose, dislipidemia e aumento da pressão arterial (PORTELLA et al., 2015).

Há evidências, em estudos com animais e seres humanos, que apontam que mudanças de hábitos, relacionadas com a saúde metabólica de homens obesos, através de exercícios e/ou dieta controlada, podem influenciar de forma positiva a fertilidade (HÅKONSEN et al., 2011; MCPHERSON et al., 2013); Sendo o sedentarismo uma das causas propiciadoras da obesidade, o treinamento físico é considerado um dos métodos de tratamento, não medicamentoso, utilizados para essa enfermidade. Apesar da relação entre a prática regular de atividades físicas e a prevenção e controle da obesidade já estar bem estabelecida, a influência de diferentes tipos de treinamento físico nas alterações reprodutivas ocasionadas pela superalimentação em fases críticas como a lactação e infância ainda são escassos. Sendo este o objetivo do presente trabalho.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 OBESIDADE

O sobrepeso e a obesidade se caracterizam pelo acúmulo anormal ou excessivo de gordura corporal. Indivíduos com o índice de massa corporal (IMC) igual ou maior que 30 geralmente são considerados obesos. Uma pessoa com um IMC igual ou superior a 25 é considerada com excesso de peso (WHO, 2016).

A prevalência da obesidade é crescente em todo o mundo uma vez que a industrialização e a modernização criaram um ambiente "obesogênico" com abundância calórica e automatização favorecendo um estilo de vida sedentário (LEE, 2009).

Essa epidemia global requer atenção especial dos serviços de saúde, já que a obesidade em todo o mundo mais do que duplicou desde 1980. Em 2014, mais de 1,9 bilhão de adultos, com 18 anos ou mais, estavam acima do peso. Sendo que mais de 600 milhões estavam obesos. Essa enfermidade atinge pessoas em todas as faixas etárias, 41 milhões de crianças com menos de cinco anos de idade estavam acima do peso ou obesos em 2014 (WHO, 2016).

No Brasil, segundo o VIGITEL (2014), um levantamento realizado nas capitais e no Distrito Federal feito pelo Ministério da Saúde, considerando indivíduos com mais de 18 anos de idade, em um conjunto das 27 cidades (capitais e distrito federal), a frequência de adultos obesos foi de 17,9%, sem diferença entre os sexos. Em ambos os sexos, a frequência da obesidade tendeu a aumentar com a idade até aos 44 anos. Em relação ao excesso de peso a frequência foi de 52,5% nas 27 cidades, sendo maior entre homens (56,5%) do que entre mulheres (49,1%). Dados alarmantes e que precisam ser revertidos para uma melhor qualidade de vida da população. A alteração no estilo de vida através de exercício físico e reeducação alimentar são fatores de suma importância para o tratamento e prevenção da obesidade (KLIJN; VAN DER BAAN-SLOOTWEG; VAN STEL, 2007).

A obesidade é uma doença multifatorial, vários fatores são predisponente a obesidade, como alterações no metabolismo energético, sedentarismo, influências genéticas e ambientais, condições neurológicas e psicossociais e alterações no comportamento alimentar e hormonal (HASLAM; JAMES, 2005). A Leptina e a insulina são hormônios envolvidos na fisiopatologia da obesidade. A leptina conhecida como hormônio da saciedade, é produzida pelo tecido adiposo e secretada na circulação em níveis proporcionais à massa desse tecido. Atua como fator de sinalização entre o tecido adiposo e o sistema nervoso central, reduzindo a ingestão alimentar e aumentando o gasto energético (EGUCHI et al., 2007; VAN DE SANDE-LEE; VELLOSO, 2012). A insulina é produzida pelas células beta do pâncreas e secretada durante as refeições, esse hormônio também é anorexígeno. Em indivíduos obesos a concentração de leptina e de insulina é aumentada assim como a resistência a esses hormônios.

A obesidade é consequência de um balanço energético positivo. O excesso de energia é armazenado nos adipócitos, que têm alta capacidade de

hipertrofia e hiperplasia. Os adipócitos apresentam uma série de funções, como estocagem de energia e controle neural e hormonal. Essas células secretam várias substâncias como leptina, adiponectina, fator de necrose tumoral (TNF) - α , Interleucina 6 (IL- 6) entre outros. Na ocorrência da obesidade, estas substâncias podem estar desreguladas por alteração morfofuncional dos adipócitos, relacionando a adiposidade com às complicações características da obesidade, como doença cardiovascular, resistência à insulina, diabetes mellitus do tipo 2, dislipidemia e câncer (CAMPOS,2006). Além disso, existem vários estudos que mostram uma relação entre obesidade e subfecundidade. Trabalhos que associam o índice de massa corporal (IMC) com os parâmetros reprodutivos em homens, apontam que o aumento do IMC está relacionado com a má qualidade do sêmen, diminuição da concentração e motilidade de espermatozoides (CABLER et al., 2010).

2.1.1 PROGRAMAÇÃO METABÓLICA

A programação metabólica ocorre por condições adversas em que o indivíduo é exposto durante o desenvolvimento neonatal e pós-natal, condições como abundância ou escassez de alimentos maternos, estresse, uso de bebidas alcoólicas, entre outros (HAUSMAN et al., 1991). Essa condição é aceita como um dos principais determinantes da saúde no curso de vida da prole (KIANI; NIELSEN, 2011), pois esses estímulos ambientais de natureza física, mental ou nutricional podem influenciar a expressão genômica da descendência, através de mecanismos da epigenética, para que a prole se torne melhor adaptada ao meio ambiente. A epigenética é um termo utilizado para definir mudanças que ocorrem na expressão gênica, sem que ocorra nenhuma alteração na sequência do código genético (GIBBS, 2007; JIRTLE; SKINNER, 2007). Em qualquer período da vida do indivíduo, as alterações epigenéticas podem ocorrer e podem levar ou não ao desenvolvimento de certas patologias (COSTA OLIVEIRA BRITO; PACHECO, 2013).

O desenvolvimento intrauterino e pós-natal são momentos de grande plasticidade e críticos para a maturação dos sistemas, aumentando dessa forma a suscetibilidade ao desenvolvimento de patologias a longo prazo como diabetes mellitus tipo 2, obesidade, hipertensão, doença cardiovascular e vários tipos de

câncer (WATERLAND; GARZA, 1999). Nesses períodos ocorrem o desenvolvimento e o crescimento do sistema nervoso central (SANTOS-MONTEIRO et al., 2002), portanto estímulos ambientais no meio intrauterino e na fase de lactação podem contribuir para o desencadeamento de patologias na vida adulta como doenças metabólicas e a obesidade, via programação metabólica.

A primeira evidência que apoia os efeitos da programação metabólica na prole, sobre o desenvolvimento da obesidade, vem de estudos epidemiológicos em populações humanas, especificadamente durante a Segunda Guerra Mundial em um período conhecido como Fome de Inverno Holandesa. Onde os descendentes de mulheres expostas à desnutrição durante o primeiro trimestre de gestação possuíam maior riscos de desenvolvimento de obesidade. Entretanto, as mães que ficaram desnutridas durante o último trimestre da gestação tiveram filhos que apresentaram baixa incidência de obesidade (RAVELLI et al., 1976).

Outros exemplos que abordam a programação metabólica associada a condições adversas nutricionais maternas foram as pesquisas que utilizam modelo ovino grávido, os fetos oriundos de mães que foram desnutridas durante o período periconcepcional apresentaram desenvolvimento alterado do eixo hipotalâmico-hipófise-adrenal (HPA), além do aumento da taxa de parto prematuro, função pancreática e sinalização de insulina fetal alteradas (OLIVER et al., 2007). A restrição nutricional no início até a metade da gestação alterou a deposição de gordura a longo prazo e desregulou a absorção de glicose na descendência masculina (FORD et al., 2007). A privação alimentar durante a gestação tardia também afetou a homeostase da insulina e da glicose na prole (GARDNER, 2005).

Em roedores, a superalimentação na infância é induzida pelo método de redução de ninhada, devido a maior disponibilidade de leite materno, sendo um modelo experimental útil para estudar as consequências da sobrenutrição precoce já que os animais provindos de ninhada reduzida apresentam hiperfagia, hiperinsulinemia e obesidade (PLAGEMANN et al., 1999). A superalimentação precoce em roedores pode levar a mudanças nos circuitos hipotalâmicos que controlam a homeostase de energia, afetando

expressão gênica e a função de vários órgãos. Essas alterações podem induzir modificações permanentes no metabolismo e provavelmente estão envolvidas na maior susceptibilidade desses roedores a condições patológicas (HABBOU et al., 2013).

2.2 OBESIDADE E REPRODUÇÃO

A prevalência de homens obesos tem aumentado nas últimas décadas, assim como a taxa de infertilidade masculina. Os efeitos negativos da obesidade nos parâmetros reprodutores de homens têm sido bem relatados na literatura, a estrutura física e a molecular dos espermatozoides podem ser afetadas pela obesidade (PALMER; BAKOS; et al., 2012). Contudo, existem estudos que contradizem a relação dessas duas variáveis. Nem todos os homens obesos são inférteis, eles podem apresentar função erétil prejudicada, temperaturas escrotais aumentadas e qualidade de espermatozoides reduzida (ASRM, 2015).

Os parâmetros seminais alterados, acarretados pela obesidade podem incluir motilidade anormal, concentração de espermatozoides reduzida, morfologia anormal e comprometimento da integridade da cromatina (PALMER; W. BAKOS; et al., 2012). Além disso, o aumento do tecido adiposo está associado a diminuição da testosterona e aumento do estrogênio. O excesso de estrogênio é explicado pela alta disponibilidade da enzima aromatase do citocromo P450, que é responsável por converter andrógenos em estrogênio, essa enzima é expressa em altos níveis de tecido adiposo branco (CABLER et al., 2010). O aumento dos níveis de estrogênio circulante desregula o mecanismo de controle do eixo hipotálamo hipófise gonadal (HHG) através do feedback negativo do estrógeno na secreção de hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) pelo hipotálamo, diminuindo a produção de FSH (hormônio folículo estimulante) e LH (hormônio luteinizante) pela hipófise, afetando a produção hormonal e a espermatogênese. Por isso, homens obesos ou com síndrome metabólica sofrem o hipogonadismo hipogonadotrópico, podendo explicar problemas na espermatogênese e de disfunção erétil (HAMMOUD et al., 2008; MIHALCA R; FICA S, 2014). Muitos estudos mostram

níveis inalterados de gonadotrofina em homens obesos, sugerindo que este fenômeno provavelmente ocorre apenas em um subgrupo de pacientes.

A hiperinsulinemia é uma condição presente em homens obesos, e também está relacionada com a diminuição de testosterona. O aumento da insulina diminui a produção hepática de globulina ligadora de hormônios sexuais (SHBG), que por sua vez, aumenta a quantidade de estrogênio livre, biologicamente ativo e testosterona livre (não ligada ao SHBG) na circulação sanguínea. Os níveis reduzidos de SHBG, para sustentar os níveis homeostáticos de testosterona, contribuem para redução da concentração de testosterona total e, conseqüentemente, na diminuição da contagem de espermatozoides, tendo um efeito negativo na quantidade e qualidade do espermatozoide de homens obesos (ASRM, 2015).

Jensen et al. (2004) realizaram um estudo onde o IMC de 1.558 homens dinamarqueses foi avaliado e associado à qualidade do sêmen e os hormônios reprodutivos. Observaram uma menor concentração de espermatozoides em homens obesos e com excesso de peso, assim como em homens que apresentaram o IMC significativamente baixo. Neste estudo, o IMC não foi associado a motilidade ou morfologia espermática. A SHBG, inibina B, o FSH e a testosterona sérica diminuíram significativamente com o aumento do IMC. Essa associação negativa entre o IMC e os níveis de testosterona e da SHBG também foram evidenciadas pelo estudo de Aggerholm et al. (2008), não havendo diferença significativa nos níveis de LH e FSH entre os grupos sobrepeso, obeso e controle. Mostrando que há uma discrepância na literatura quanto aos níveis de gonadotrofinas relacionada com a obesidade.

A leptina é produzida principalmente pelo tecido adiposo, por tanto é aumentada em indivíduos obesos e também é correlacionada negativamente com a concentração de testosterona (HOFNY et al., 2010). Os mecanismos pelos quais a leptina atua sobre o sistema reprodutor masculino não são bem esclarecidos. É bem estabelecido que esse hormônio tem grande importância na inicialização da maturação sexual. Tena-sempere e Barreiro (2002) sugerem que a leptina parece atuar como um sinal de inibição direto na esteroidogênese testicular, tendo importância na relação entre a diminuição de testosterona e excesso de leptina em homens obesos. Por existir receptores para a leptina nos

ovários e testículos, especificamente nas células de Leydig e células germinativas, pressupõe-se que a leptina tem certo papel na regulação da reprodução masculina, influenciando o eixo HHG (PALMER, 2012). Além disso, Jope et al., (2003) relataram a presença de receptores de leptina na membrana plasmática de espermatozoides, sugerindo que esse hormônio pode ter impacto diretamente nos espermatozoides, independentemente da regulação do eixo (HHG) (CABLER *et al.*, 2010; HOFNY et al., 2010).

Ishikawa et al. (2007) estudaram a relação entre a expressão de leptina, receptor de leptina no testículo, espermatogênese e a concentração de testosterona (T) em homens inférteis. A expressão de receptor de leptina nas células de Leydig foi inversamente correlacionada com a concentração de testosterona sérica, houve associação entre a disfunção da espermatogênese com o aumento da leptina e da expressão do receptor de leptina no testículo.

A inibina B é outro hormônio envolvido na regulação do eixo HHG e que se encontra alterado em homens obesos. Globerman et al. (2005) associaram a obesidade a baixos níveis de Inibina B. Esse hormônio é um polipeptídeo secretado pelas células de Sertoli sob o controle do FSH e atua na hipófise regulando os níveis séricos de FSH (DEPUYDT et al., 1999). Sendo um marcador da função das células de Sertoli e, conseqüentemente, da espermatogênese, a concentração de inibina está positivamente relacionada ao número de células de Sertoli (KUMANOV et al., 2006). O aumento dos níveis de estrogênio, associado à ação da aromatase, interfere na regulação do eixo HHG, causando supressão de gonadotrofinas (LH e FSH), o que pode explicar a redução de inibina B em machos obesos. Assim, níveis baixos de inibina indicam menor número de células de Sertoli, afetando o funcionamento normal da espermatogênese, já que cada célula de Sertoli suporta um limite de células germinativas, o que causa a diminuição da contagem dos espermatozoides (WINTERS et al., 2006).

A integridade do DNA do espermatozoide é de grande importância para a fertilização bem sucedida e o desenvolvimento embrionário normal. A fragmentação do DNA é um parâmetro comumente encontrado em machos obesos o que pode afetar a concentração e motilidade do espermatozoide (CABLER et al., 2010).

As adipocinas secretadas pelo excesso de tecido adiposo branco como o fator de necrose tumoral (TNF α) e a interleucina 6 (IL-6) promovem inflamação, alterando a atividade das citocinas intra-testiculares, o que afeta os espermatozoides através da liberação de espécies reativas do oxigênio (ROS) e de nitrogênio (RNS), essas moléculas também são liberadas como consequência do estresse oxidativo (FRACZEK; KURPISZ, 2007). É bem estabelecido que as concentrações aumentadas de ROS e RNS têm efeito negativo nos parâmetros espermáticos, principalmente na motilidade dos espermatozoides. Pôr a membrana plasmática do espermatozoide conter abundância de ácidos graxos insaturados, o espermatozoide se torna sensível ao ataque do ROS e peroxidação lipídica, podendo levar a danos no DNA e morte dos espermatozoides (DU PLESSIS et al., 2011).

Além disso, homens obesos tendem a ter a temperatura escrotal aumentada, pois com o aumento do IMC, há aumento da deposição de gordura na região escrotal, interferindo na transferência normal de calor testicular, o que pode alterar a espermatogênese e, conseqüentemente, reduzir a concentração espermática, uma vez que a espermatogênese é muito sensível ao aumento da temperatura (MIHALCA ; FICA , 2014).

2.3 OBESIDADE E EXERCÍCIO FÍSICO

Uma forma não medicamentosa para evitar e combater a obesidade é a prática de exercício físico regular. As atividades físicas possuem inúmeros e bem estabelecidos benefícios como a prevenção de condições de saúde crônicas, promovendo bem estar psicológico e físico, além da perda de peso e melhoria na qualidade do sono (REID et al., 2011).

A prática de atividades físicas é recomendada para indivíduos obesos com intuito de aumentar o gasto de energia para que ocorra um balanço energético negativo, auxiliando a perda e manutenção do peso corporal. Além disso a prática de exercício físico melhora o perfil metabólico, com redução da glicemia em indivíduos com diabetes mellitus tipo 2 (JORGE et al., 2011), através da via insulina independente, mediada pela proteína quinase dependente de AMP (AMPK). Onde durante a contração muscular ocorre o aumento da taxa de

captação de glicose pelo músculo esquelético (RÖCKL; WITCZAK; GOODYEAR, 2008), através do aumento da taxa de transcrição e translocação do transportador de glicose tipo 4 (GLUT4) mediado pela AMPK. Os indivíduos com diabetes tipo 2 e obesos apresentam resistência à insulina, condição que compromete a captação de glicose e causa hiperglicemia. No entanto através do exercício físico a via da proteína AMPK pode ser ativada reduzindo a glicemia (GOODYEAR; KAHN, 1998).

Os níveis de catecolaminas aumentam durante o exercício fazendo com que haja aumento na taxa de metabolismo, aumento da glicogenólise tanto no fígado quanto no músculo, aumento da força de contração do coração e da liberação de glicose e ácidos graxos livres para a corrente sanguínea (STRELIAEV CANALI; FERNANDO; KRUEL, 2001). Tendo efeitos de suma importância no metabolismo energético.

Além disso, a prática regular de exercício físico pode promover efeitos crônicos, tais como: diminuição na concentração de triglicérides, LDL, colesterol total (CT), resistência à insulina, massa corporal, IMC e níveis pressóricos com aumento nos níveis de HDL, massa corporal magra e taxa metabólica basal (CAMBRI et al., 2006).

Vaamonde et al. (2009) relacionaram a prática de exercícios físico com parâmetros seminais e observaram que os indivíduos que praticavam endurance tinham melhores parâmetros de sêmen e níveis hormonais do que os indivíduos sedentários. No entanto existem estudos que relacionam o exercício, em especial quando praticado de forma excessiva com efeitos adversos sobre a fertilidade, como observado no estudo de Arce et al. (1993) onde a concentração, motilidade e a penetração *in vitro* de espermatozoides foram alterados em corredores de alta quilometragem, quando comparados com corredores de baixa quilometragem e controle sedentário.

A perda de peso, através de dieta e exercício físico pode levar a melhoria na qualidade do sêmen. Håkonsen et al. (2011) demonstraram a perda de peso associada ao aumento na contagem total e morfologia normal de espermatozoide, aumento de testosterona e SHBG entre homens que participaram de um programa de perda de peso de 14 semanas. Em estudo com

modelo experimental as adversidades nos parâmetros espermáticos (redução da morfologia e motilidade e aumento do dano no DNA e estresse oxidativo) encontrados em machos obesos também foram revertidas com dieta e exercício físico (PALMER; BAKOS; et al., 2012).

No entanto, é evidente que a atividade física dependendo da duração, intensidade, tipo de modalidade, assim como características inerentes aos atletas (IMC, nível de aptidão física, capacidade de adaptação, etc.) possui efeitos nos parâmetros reprodutivos e metabólicos de machos. Sendo esta uma das principais abordagens tanto em humanos quanto em animais para o tratamento da obesidade e suas comorbidades.

3. HIPÓTESE

O treinamento *endurance* moderado e/ou o treinamento intervalar de alta intensidade (*high intensity interval training* - H.I.I.T.) modificarão os parâmetros metabólicos e a capacidade reprodutiva de ratos Wistar superalimentados na infância.

4.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar e comparar os efeitos de diferentes tipos de treinamento físico no metabolismo, estrutura dos órgãos reprodutores e na performance reprodutiva de machos superalimentados na lactação.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Avaliar alterações morfológicas e bioquímicas características de obesidade/sobrepeso nos animais superalimentados na infância.
2. Avaliar a vitalidade, morfologia e concentração espermática, assim como a morfologia dos órgãos reprodutivos de machos superalimentados durante a lactação, submetidos ou não a diferentes tipos de exercício físico.
3. Avaliar as alterações estruturais nos órgãos reprodutivos de machos superalimentados na fase de lactação, submetidos ou não a diferentes tipos de exercício físico.
4. Avaliar e comparar parâmetros bioquímicos, peso corporal e consumo de machos superalimentados na fase de lactação, submetidos ou não a diferentes tipos de exercício físico.

5. MATERIAL E MÉTODOS

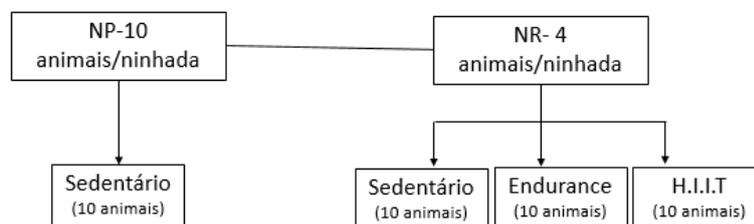
5.1 Animais:

Foram utilizados 40 ratos machos Wistar (*Rattus norvegicus* L. Berkenhout, 1769), provenientes do Centro de Biologia da Reprodução da Universidade Federal de Juiz de Fora. Os animais foram mantidos em gaiolas de polipropileno (49 × 34 × 16 cm), forradas com maravalha não esterilizada e providas de cocho para ração do tipo peletizada e mamadeira para água filtrada. As gaiolas foram mantidas em armários climatizados ALESCO® (Brasil) e temperatura controlada de 22 ± 2° C. Os animais foram alojados em salas com dispositivo para manter a iluminação com ciclo de claro/escuro de 12 horas. A proporção de animais adotada foi de no máximo cinco animais por gaiola. Todos os procedimentos foram submetidos e aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFJF (CEUA/UFJF) sob protocolo 045/2016.

5.2 Procedimento experimental

Os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos no segundo dia após o nascimento, conforme mostrado na figura 1, onde o tamanho das ninhadas do Grupo 1 (controle), denominado de Ninhada Padrão (NC), foi de 10 machos, enquanto as ninhadas do Grupo 2, denominado de Ninhada Reduzida (NR), constaram de 4 machos por mãe. O grupo que sofreu redução de ninhada foi subdivididos em três subgrupos, sendo um grupo sedentário (NRSed), um grupo submetido a um programa de treinamento de *endurance* (NREnd) de intensidade moderada e um grupo submetido a um programa de treinamento intervalado de alta intensidade- *high intensity interval training* - H.I.I.T.(NRHiit). O grupo ninhada padrão não realizou protocolos de atividades físicas, sendo sedentário (NCSed).

Figura 1. Fluxograma demonstrando a formação dos grupos de animais provenientes de ninhadas padrão (NP) e ninhadas reduzida (NR).



5.2.1 Protocolo para redução de ninhadas

Foi realizado pelo Biotério de criação do Centro de Biologia da Reprodução. O remanejamento dos animais ocorreu no segundo dia de vida pós natal, seguindo as técnicas de BEI *et al.* (2015).

5.3 Consumo máximo de oxigênio e protocolo de treinamento

Antes, durante e após a realização dos programas de treinamento, todos os animais pertencentes a todos os grupos e subgrupos, foram submetidos a avaliação de capacidade aeróbica máxima (VO_2 máx.) em esteira metabólica. Os resultados foram utilizados para um melhor ajuste na prescrição das cargas de treinamento, tornando-o mais individualizado e de acordo com a capacidade aeróbica de cada animal. Antes do primeiro teste de VO_2 máx., os animais foram adaptados ao exercício em esteira por cinco dias consecutivos, por um período de 10-15 minutos. Após quatro semanas de treinamento, os animais foram submetidos novamente ao teste de VO_2 máx. com o objetivo de ajustar as cargas de treinamento. Os animais correram em esteira até a exaustão, a uma inclinação de 5°, iniciando a uma velocidade de 6m/min e aumentada em 3m/min a cada 3 minutos até que estivessem inaptos a continuar o exercício. A inaptidão foi determinada como o momento em que o rato não conseguia manter a corrida de acordo com a velocidade da esteira e se sujeitava ao estímulo elétrico por pelo menos 10 segundos (RODRIGUES *et al.*, 2004)

O protocolo do treinamento de *endurance* moderado foi feito em três sessões semanais, por oito semanas, com duração de 60 minutos por sessão,

na intensidade de 65-70% do VO₂máx. Cada sessão de treinamento foi dividida em 10 minutos para aquecimento (50% VO₂ máx.) e 50 minutos para a parte principal (65-70% do VO₂máx.). Houve ajuste da carga de treinamento após as primeiras quatro semanas de treinamento, após uma nova avaliação do VO₂ máx. O protocolo de treinamento intervalado de alta intensidade (H.I.I.T.) durou 40 minutos sendo 10 minutos destinados ao aquecimento (50% VO₂ máx.) e seis períodos de 3 minutos de corrida de alta intensidade (85-90% do VO₂ máx.) intercalados com períodos de 2 minutos de corrida de baixa intensidade (50% VO₂ máx.), totalizando 30 minutos para a parte principal. O ajuste da carga de treinamento também foi realizado após as primeiras quatro semanas de treinamento, após uma nova avaliação do VO₂ máx. Todos os protocolos de

Figura 2. Esteira rolante Insight ® na qual os animais praticaram o protocolo de atividade física moderado (endurance) e intenso (H.I.I.T.).

treinamento foram iniciados no desmame, aos vinte e um dias de vida.



Fonte: arquivo pessoal.

5.4. Teste oral de tolerância à glicose (TOTG)

Na semana anterior da eutanásia, os animais foram submetidos ao jejum alimentar no período de seis horas e foi coletado sangue a partir do lancetamento da cauda dos animais para aferição de glicemia capilar no T₀ (tempo zero). Em seguida foram ministrados 2g/kg de peso corporal de solução de glicose a 50%,

via gavagem, coletando-se a partir de então, amostras de sangue nos tempos T1 (15'), T2 (30'), T3 (60') e T4 (120'). As amostras foram analisadas em glicosímetro AccuChek Performa (Roche®, Germany). A área total sob a curva do TOTG foi calculada (SILVA et al., 2015).

5.5. Avaliação de tolerância à insulina (TTI)

O TTI foi realizado no dia anterior à eutanásia, os animais foram submetidos ao jejum por seis horas. Todos os animais receberam infusão intraperitoneal de insulina (1U/Kg de peso corporal) e as amostras para medições da glicemia sanguínea foram coletadas no tempo 0 (basal), T5 (5'), T15 (15'), T30 (30') e T45 (45'). A constante de decaimento da glicose plasmática (Kitt) foi calculada pela fórmula $0.693/(t_{1/2})$, onde $t_{1/2}$ é calculado a partir da inclinação da menor análise quadrática das concentrações plasmáticas da glicose após a injeção de insulina (ANDREAZZI et al., 2009).

5.6. Eutanásia

Os animais foram eutanasiados aos 90 dias por ruptura do diafragma após anestesia. O protocolo anestésico utilizado foi a administração conjunta do anestésico dissociativo cloridrato de quetamina na dose de 90 mg/kg (Vetanarcol®, Konig, Brasil) e o sedativo e miorreaxante cloridrato de xilazina na dose de 10 mg/kg (Kensol®, Konig, Brasil), por via intraperitoneal. (WOLFENSOHN; LLOYD, 1994.)

5.7. Avaliação do peso, ganho ponderal, consumo alimentar e pesagem dos órgãos

Após o desmame, a evolução do peso corporal e o consumo alimentar foram avaliados semanalmente. A avaliação da obesidade visceral foi realizada através do peso relativo da gordura retroperitoneal e perigonadal. O testículo esquerdo e direito, epidídimo, vesícula seminal, próstata, rins, coração, fígado, pâncreas, glândulas adrenais esquerda e direita e cérebro foram removidos e pesados em balança de precisão.

5.8. Contagem dos espermatozoides

Os espermatozoides foram coletados da secreção epididimária, através de uma pequena incisão na cauda do epidídimo esquerdo. Foram coletadas duas amostras da secreção que foram colocadas imediatamente em 50 µL de solução tampão PBS (Sigma®).

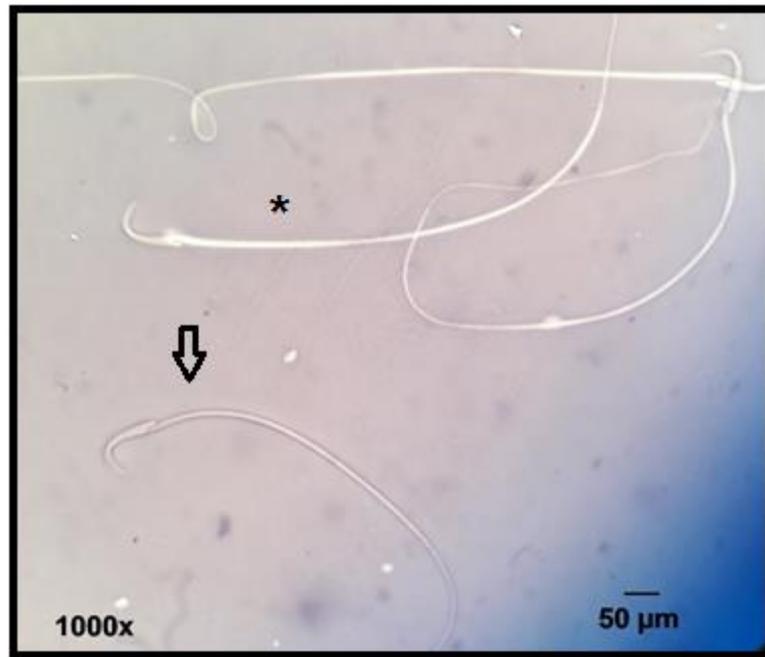
Uma amostra foi utilizada para a contagem de espermatozoides e a outra para a avaliação morfológica e de vitalidade dos espermatozoides. Após a homogeneização da secreção epididimária com o PBS foi retirada uma alíquota de 20 µL dessa solução, que foi colocada em 6 mL de água destilada para imobilização dos espermatozóides (diluição 1:300). Essa amostra diluída foi utilizada para contagem dos espermatozoides na câmara de Neubauer em microscópio óptico modelo BX41TF, da marca Olympus® (Japão) no aumento de 100x. Foram contados os espermatozóides dos quatro quadrantes laterais dos dois lados da câmara e foi considerado o valor médio dos espermatozoides encontrados nesses quadrantes. A partir desse valor, foi obtida a concentração de espermatozóides a partir da fórmula:

Concentração de espermatozóides (sptz/mL) = Média obtida x 300 x 10⁴.

5.9. Avaliação da vitalidade espermática

A avaliação da vitalidade dos espermatozoides foi realizada pela técnica de coloração nigrosina-eosina (WHO, 2010). Uma fração de 20mL da secreção epididimária homogeneizada em PBS foi colocada em placa de Petri aquecida a 37°C. Posteriormente foi colocado o mesmo volume dos corantes de nigrosina-eosina também previamente aquecido. Após 30 segundos da mistura com o corante nigrosina, foi realizado esfregaço para a avaliação de 200 espermatozóides em aumento final de 1.000x em microscópio de luz. Os espermatozoides não corados, visíveis pelo fundo negro, corados com nigrosina, foram classificados como vivos, já os espermatozoides corados pela eosina (avermelhados) foram classificados como mortos (Figura 2). Somente foram analisados os espermatozoides íntegros, que apresentarem cabeça, peça intermediária e cauda.

Figura 3. Esfregaço de espermatozoides de rato Wistar corado pela técnica de Nigrosina e Eosina para avaliação de vitalidade. O espermatozoide morto está representado pela seta e o vivo pelo asterisco (*). Aumento de 1.000x.



Fonte: arquivo pessoal.

5.10. Avaliação da morfologia espermática

Para a avaliação da morfologia dos espermatozoides 20 μL da solução de secreção epididimária e PBS foram diluída em 2 mL de água. Com essa solução realizou-se um esfregaço em lâmina de vidro que foi corada pela técnica de Shorr (WHO, 2010). Foram analisados 200 espermatozoides íntegros (com cabeça, peça intermediária e cauda) e classificados em normais e anormais no aumento de 1.000x em microscópio de luz. As principais alterações dos espermatozoides anormais são: defeitos de cabeça (amorfos e cabeça dupla) e defeitos de cauda (caudas curtas, múltiplas, quebradas e enroladas).

5.11. Processamento histológico

Após a pesagem, o testículo foi fixado no fixador modificado de Karnovsky (paraformaldeído a 4%: glutaraldeído a 4% em tampão salina fosfato 0,1 mL/L, pH 7,4) e o epidídimo em Bouin. Foram feitos cortes nas extremidades do testículo para que o fixador penetrasse no parênquima do órgão. Os fragmentos

dos testículos e dos epidídimos foram incluídos em parafina e submetidos à microtomia. Os cortes foram realizados em espessura de 5 μm , os testículos foram corados com hematoxilina-eosina e os epidídimos com Tricromo de Gomori. Os cortes histológicos foram fotografados no programa de captura de imagem Axiovision versão 4.7 (Zeiss® - Alemanha) para posterior análise histomorfométrica de: diâmetros do túbulo seminífero e do lúmen tubular, altura do epitélio seminífero e altura do epitélio epididimário.

5.12. Análise Histométrica

A altura do epitélio do epidídimo foi determinada a partir de quatro medidas por túbulo em 10 túbulos transversais/animal no segmento inicial e no caudal do epidídimo (Figura 3), os túbulos mais circulares foram utilizados para esta análise. A média de altura do epitélio dos 10 túbulos por animal foi calculada e foram analisados seis animais por grupo.

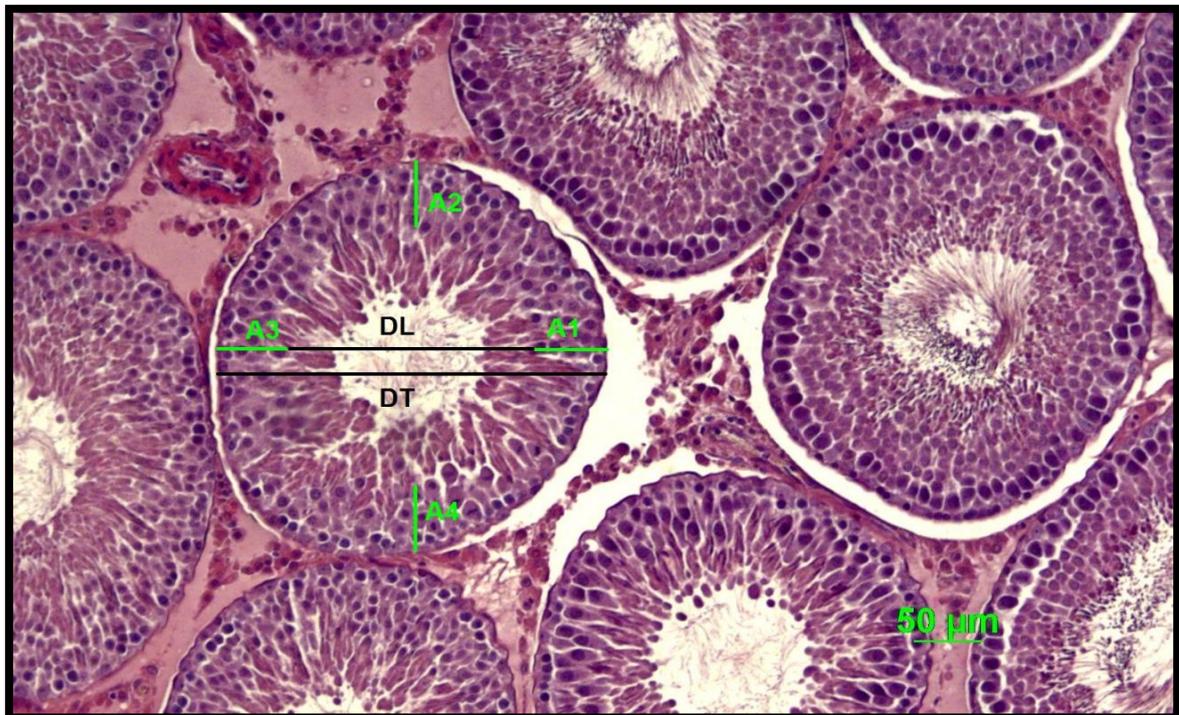
Nos testículos foram avaliados a altura do epitélio, o diâmetro total e o diâmetro luminal de 20 túbulos seminíferos por animal. A altura do epitélio dos túbulos seminíferos, foi determinada pela média de quatro medições, tomadas em posições opostas, para isso considerou-se as medidas da lâmina basal até a última espermatíde redonda nucleada. Para determinação do diâmetro luminal a diferença entre o valor do diâmetro total do túbulo e a soma de duas alturas horizontais do epitélio seminífero foi calculada (Figura 4). Foram analisados seis testículos por grupo. O programa de captura de imagem e Image Pro Plus® – Versão 6 foi utilizado para as medições dos testículos e epidídimos.

Figura 4. Determinação da altura do epitélio do ducto epididimário em corte histológico de epidídimo de rato Wistar. A1, A2, A3 e A4 – medidas de altura do epitélio do segmento inicial do ducto epididimário. Coloração Tricrômico de Gomori, espessura de 5 μ m.



Fonte: arquivo pessoal.

Figura 5. Determinação de diâmetro e altura do epitélio do túbulo seminífero em corte histológico de testículo de rato Wistar. DT– medidas do diâmetro total tubular; DL- medida do diâmetro luminal; A1, A2, A3 e A4 – medidas da altura do epitélio seminífero. Coloração de



Fonte: arquivo pessoal.

5.13. Análise Estatística

Para a verificação da normalidade dos dados, o teste de Shapiro Wilk foi realizado. O teste t independente para a análise de dados com distribuição normal e o teste de Mann Whitney para dados não paramétricos foram utilizados para comparação dos resultados dos grupos formados por animais de ninhada reduzida sedentário com os resultados dos animais ninhada controle sedentário. O teste ANOVA One Way com *post hoc* de Tukey foi utilizado para comparação entre os três subgrupos (endurance, H.I.I.T., sedentário) pertencentes ao grupo ninhada reduzida para os dados com distribuição normal, enquanto que os testes de Kruskal-Wallis seguido pelo teste de Mann Whitney foram utilizados para os dados não paramétricos para essa mesma comparação. Foi considerado o nível de significância $p < 0,05$. Todas as análises foram realizadas utilizando-se o software SPSS (SPSS Inc.[®], versão) e o GraphPadPrism[®] 5.0 (San Diego, EUA).

6. RESULTADOS

6.1. Artigo submetido ao periódico 'The journal of physiology'.

Bolotari, M.¹; Andreazzi, A.E. ¹;Costa, V. M. ¹; Lade, C. G. ¹; Guerra, M.O¹.;
Peters, V.M. ¹

¹Centro de Biologia da Reprodução/ Universidade Federal de Juiz de Fora

Effect of overfeeding during childhood on metabolism and reproductive activity of adult male Wistar rats.

Abstract

Obesity is associated with several comorbidities, such as cardiovascular disease and male infertility. It may have its origin in early stages of life, such as in the lactation period, through metabolic programming. Experimentally, litter size reduction simulates overfeeding in childhood, allowing the study of the effects of overweight on metabolism and reproduction. The objective of this study was to evaluate the effects of overfeeding in infants through the litter reduction method in the metabolism and reproductive capacity of adult Wistar males. Wistar rats were divided into two groups: Control Group (CG) with 10 animals per litter and Small Litter (SL) 4 animals/litter. Insulin tolerance (ITT) and oral glucose tolerance (OGTT) tests were performed. Weight of some organs, biochemical parameters, concentration, vitality and sperm morphology, testicle descent and penile glans morphology were also evaluated. The GR animals presented alterations in the metabolic parameters, with the highest gain of body mass and visceral adiposity, increase in glycemia and a greater resistance to insulin. In addition, they had decreased seminal vesicle, prostate and epididymis weight in relation to the control group, concluding that overfeeding during childhood changes metabolic parameters in adult life, without altering puberty and sperm parameters.

Keywords

obesity, male reproduction, metabolism.

6.2. Artigo a ser submetido.

Bolotari, M.¹; Andreazzi, A.E. ¹; Costa, V. M. ¹; Lade, C. G. ¹; Guerra, M.O¹.; Peters, V.M. ¹

¹Centro de Biologia da Reprodução/ Universidade Federal de Juiz de Fora

Avaliação de parâmetros reprodutivos de ratos Wistar superalimentados na infância submetidos a diferentes tipos de treinamento físico.

Resumo: A superalimentação pós-natal é um importante fator para o desenvolvimento obesidade e as comorbidades associadas à essa condição, incluindo distúrbios metabólicos e reprodutivos. Ratos criados em ninhadas reduzidas desenvolvem sobrepeso, hiperfagia, hiperleptinemia e hipertensão arterial quando adultos, sendo que a capacidade reprodutiva do modelo de redução de ninhada ainda não é relada. O exercício físico crônico tem efeito benéfico em indivíduos obesos, propomos avaliar o efeito de dois protocolos de treinamento em esteira nos parâmetros metabólicos e reprodutivos de animais programados pela superalimentação pós-natal. No 2º dia de lactação, dividimos as ratas lactantes em 2 grupos: Controle - ninhada composta por 10 machos que não realizou atividade física (NCSed) e Superalimentados - ninhada composta por 4 filhotes machos. Este último grupo foi subdividido em 3 grupos: um sedentário (NRSed), um grupo exercitado endurance (NREnd) e outro exercitado Hiit (NRHiit) após o desmame, e os filhotes de ambos os grupos foram alimentados com ração comercial, o teste máximo em esteira foi realizado para a prescrição do treinamento que foram inicializados após ao desmame. O grupo NRSed apresentou aumento na massa corporal, nas gorduras retroperitonal e perigonadal, além de distúrbios nos parâmetros glicêmicos em relação ao NCSed, mostrando a eficiência do modelo na indução de obesidade, os parâmetros reprodutivos não foram alterados. Os grupos exercitados (NREnd e NRHiit) apresentaram uma menor glicemia, peso relativo das gorduras menores, e melhora na resistência à insulina e no teste de capacidade física. O exercício físico crônico em esteira foi capaz de alterar parâmetros associados à obesidade observados nos animais programados metabolicamente pela superalimentação.

6.3. Apresentações de trabalhos em congresso:

- “AVALIAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO FÍSICO E NEUROMOTOR DE FÊMEAS WISTAR SUPERALIMENTADAS DURANTE A LACTAÇÃO”
(APÊNCICE 10.3.1)

XXXII Reunião Anual da FeSBE, realizado de 03 de setembro de 2017 a 06 de setembro de 2017 na cidade de Campos do Jordão Convention Center em Campos do Jordão - SP.

- “EFEITOS DA SUPERALIMENTAÇÃO DURANTE A LACTAÇÃO NO DESENVOLVIMENTO FÍSICO E NEUROMOTOR DE MACHOS WISTAR”
(APÊNCICE 10.3.2)

XXXII Reunião Anual da FeSBE, realizado de 03 de setembro de 2017 a 06 de setembro de 2017 na cidade de Campos do Jordão Convention Center em Campos do Jordão - SP.

7. COMENTÁRIOS GERAIS

A superalimentação na infância induzida pela redução de ninhada alterou o perfil metabólico de ratos machos ocasionando sobrepeso/obesidade caracterizada pelo aumento da adiposidade e massa corporal, no entanto não alterou os parâmetros seminais e estruturais histológicos dos túbulos seminíferos e dos ductos epididimário, o exercício físico foi capaz de trazer resultados benéficos nos parâmetros desencadeados pela obesidade, como uma melhora na resistência à insulina e na aptidão física, diminuição das gorduras retroperitonal e perigonadal, e glicemia sérica.

8. CONCLUSÕES

Não foram encontradas alterações reprodutivas nos animais superalimentados durante a infância. O treinamento *endurance* moderado e o treinamento intervalar de alta intensidade (*high intensity interval training* - H.I.I.T.) modificaram a aptidão física, a glicemia, e o peso relativo das gorduras retroperitoneal e perigonadal dos animais programados metabolicamente.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGGERHOLM, A. S. *et al.* Is overweight a risk factor for reduced semen quality and altered serum sex hormone profile? **Fertility and Sterility** , v. 8, p. 1-8, 2008.

AMERICAN SOCIETY FOR REPRODUCTIVE MEDICINE. Obesity and reproduction: A committee opinion. **Fertility and Sterility** v. 104, n. 5, p. 1116–1126 , 2015.

ARCE, J.C.; DE SOUZA M.J; PESCATELLO L.S; LUCIANO A.A. Subclinical alterations in hormone and semen profile in athletes. **Fertility Sterility**, v. 59, p. 398-404, 1993.

BEI, F. *et al.* Long-term effect of early postnatal overnutrition on insulin resistance and serum fatty acid profiles in male rats. **Lipids in Health and Disease** v. 14, p. 1–13 , 2015. Disponível em: <<http://www.lipidworld.com/content/14/1/96>>.

Brasil. Vigilatel Brasil 2014: 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, p 110- 227, 2014.

BRESSAN MALAFAIA, A. *et al.* INDUÇÃO DE OBESIDADE COM SACAROSE EM RATOS Obesity induction with high fat sucrose in rats. **Arquivo Brasileiro de Cirurgia Digestiva** v. 26, n. 1, p. 17–21 , 2013.

CABLER, S. *et al.* Obesity: modern man’s fertility nemesis. **Asian Journal of Andrology** v. 12, p. 480–489 , 2010.

CAMBRI, L. T. *et al.* Perfil lipídico, dislipidemias e exercícios físicos. **Revista Brasileira de Cineantropometria & Desempenho Humano** v. 8, n. 3, p. 100-106,2006.

CAMPOS, K. E. *et al.* Obesidade e Resistência à Insulina Obesity. **Femina** v. 34, n. 9, p. 591–595 , 2006.

CANALI, E. S.; KRUEL, L. F. M. Respostas hormonais ao exercício. **Revista paulista de educação física**. v. 15, n. 2, p. 141–153 , 2001.

CESARETTI, M. L. R.; KOHLMANN J., O. Modelos experimentais de resistência à insulina e obesidade: lições aprendidas. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia** v. 50, n. 2, p. 190–197 , 2006.

COSTA O. B.; PACHECO, C. Epigenética: regulação da expressão gênica em nível transcricional e suas implicações. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde** , v. 34, n. 2, p. 125-136, 2013.

DE MOURA, E. G.; PASSOS, M. C. F. Neonatal programming of body weight regulation and energetic metabolism. **Bioscience Reports** v. 25, n. 3–4, p. 251–269 , 2005.

DU PLESSIS, S. S. *et al.* Is There a Link between Exercise and Male Factor Infertility? **The Open Reproductive Science Journal** v. 3, p. 105–113 , 2011.

EGUCHI, R. *et al.* Efeitos do exercício crônico sobre a concentração circulante da leptina e grelina em ratos com obesidade induzida por dieta. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte** , 2007.

FRACZEK, M.; KURPISZ, M. Inflammatory mediators exert toxic effects of oxidative stress on human spermatozoa. **Journal of Andrology** v. 28, n. 2, p. 325–333 , 2007.

GARDNER, D. S. Programming of glucose-insulin metabolism in adult sheep after maternal undernutrition. **American Journal of Physiology: Regulatory, Integrative and Comparative Physiology** v. 289, n. 4, p. 947–954 , 2005.

GIBBS, W. W. Além do DNA. **Scientific American Brasil**, São Paulo n. 16, Edição Especial, Genoma: o código da vida, p. 44-51, 2007.

GLOBERMAN, H.; SHEN-ORR, Z.; KARNIELI, E. Inhibin B in men with severe obesity and after weight reduction following gastroplasty. **Endocrine Research**, v. 31, p. 17–26, 2005.

GOODYEAR, L. J.; KAHN, B. B. Exercise, glucose transport, and insulin sensitivity. **Annual Review of Medicine**, v.49, p.235-261, 1998. (doi: 10.1146/annurev.med.49.1.235)

HABBOU, A. et al. Postnatal Overfeeding in Rodents by Litter Size Reduction Induces Major Short- and Long-Term Pathophysiological Consequences. **Journal of Nutrition** v. 143, n. 5, p. 553–562 , 2013. Disponível em: <<http://jn.nutrition.org/cgi/doi/10.3945/jn.112.172825>>.

HÅKONSEN, L. et al. Does weight loss improve semen quality and reproductive hormones? results from a cohort of severely obese men. **Reproductive Health** v. 8, n. 1 , 2011.

HAMMOUD, A. O. et al. Impact of male obesity on infertility: a critical review of the current literature. **Fertility and Sterility** v. 90, n. 4, p. 897–904 , 2008.

HASLAM, D. W.; JAMES, W. P. T. Obesity. **Lancet** v. 366, n. 9492, p. 1197–1209, 2005.

HAUSMAN, D. B.; MC CLOSKEY, H. M.; MARTIN, R. J. Maternal fat type influences the growth and fatty acid composition of newborn and weanling rats. **Journal of Nutrition**, v.121(12),p.1917–1923, 1991. (PMID: 1941255).

HOFNY, E. R.M. et al. Semen parameters and hormonal profile in obese fertile and infertile males. **Fertility and Sterility** , v. 94, n. 2, p. 581-584, 2010.

ISHIKAWA, T.; FUJIOKA, H.; ISHIMURA, T.; TAKENAKA, A.; FUJISAWA, M. Expression of leptin and leptin receptor in the testis of fertile and infertile patients. **Andrologia**, v. 39 p. 22–7, 2007.

JIRTLE, R. L.; SKINNER, M. K. Environmental epigenomics and disease susceptibility. **Nature Reviews Genetics**, v. 8, p. 253-262, 2007.

JENSEN, T. K. et al. Body mass index in relation to semen quality and reproductive hormones among 1,558 Danish men. **Fertility and Sterility** v. 82, n. 4, p. 863–870 , 2004.

JOPE, T.; LAMMERT, A.; KRATZSCH, J.; PAASCH, U.; GLANDER, H.J. Leptin and leptin receptor in human seminal plasma and in human spermatozoa. **International Journal of Andrology**, v. 26, p. 335-41, 2003.

JORGE, M. L. M. P. et al. The effects of aerobic, resistance, and combined exercise on metabolic control, inflammatory markers, adipocytokines, and muscle

insulin signaling in patients with type 2 diabetes mellitus. **Metabolism: Clinical and Experimental** v. 60, n. 9, p. 1244–1252 , 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.metabol.2011.01.006>>.

KIANI, A.; NIELSEN, M. O. Metabolic programming: Origin of non-communicable diseases in early life nutrition. **International Journal of Endocrinology and Metabolism** v. 9, n. 3, p. 409–415 , 2011.

KLIJN, P. H.C.; VAN DER BAAN-SLOOTWEG, O. H.; VAN STEL, H. F. Aerobic exercise in adolescents with obesity: Preliminary evaluation of a modular training program and the modified shuttle test. **BMC Pediatrics** v. 7, p. 1–11 , 2007.

KUMANOV, P. et al. Inhibin B is a better marker of spermatogenesis than other hormones in the evaluation of male factor infertility. **Fertility and Sterility** v. 86, n. 2, p. 332–338 , 2006.

LEE, Yung Seng. The Role of Genes in the Current Obesity Epidemic. **Annals of the Academy of Medicine** v. 38, n. 1, p. 41-47 , 2009.

MCPHERSON, N. O. et al. Improving Metabolic Health in Obese Male Mice via Diet and Exercise Restores Embryo Development and Fetal Growth. **PLoS ONE** , v. 8, n. 8, p. e71459, 2013.

MIHALCA R; FICA S. The impact of obesity on the male reproductive axis. **Journal of Medicine and Life** v. 7, n. 2, p. 296–300 , 2014.

MOKDAD, A. H. et al. The spread of the obesity epidemic in the United States, 1991-1998. **Journal of the American Medical Association** v. 282, n. 16, p. 1519–1522 , 1999.

OLIVER, M.H.; JAQUIERY A.L.; BLOOMFIELD, F.H.; HARDING, J.E. The effects of maternal nutrition around the time of conception on the health of the offspring. **Society of Reproduction and Fertility supplement**, v.64, p.397-410, 2007.

OSMOND, C et al. Early growth and death from cardiovascular disease in women. **BMJ (Clinical research ed.)** v. 307, n. 6918, p. 1519–24 , 1993. Disponível:<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8274920>%5Cn<http://www.pub>

medcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC1679586>.

PALMER, N. O; BAKOS, H. W; et al. Diet and exercise in an obese mouse fed a high fat diet improves metabolic health and reverses perturbed sperm function. **American journal of physiology. Endocrinology and metabolism** v. 5005, p. 768-780, 2012.

PALMER, N. O.; BAKOS, H W; et al. Impact of obesity on male fertility, sperm function and molecular composition. **Spermatogenesis** v. 2, n. 4, p. 253–263 , 2012.

PLAGEMANN, A. et al. Perinatal elevation of hypothalamic insulin, acquired malformation of hypothalamic galaninergic neurons, and syndrome X-like alterations in adulthood of neonatally overfed rats. **Brain Research** v. 836, n. 1–2, p. 146–155 , 1999.

PORTELLA, A. K. et al. Litter size reduction alters insulin signaling in the ventral tegmental area and influences dopamine-related behaviors in adult rats. **Behavioural Brain Research** v. 278, p. 66–73 , 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2014.09.033>>.

RAVELLI, G. P.; STEIN, Z. A.; SUSSER, M. W. Obesity in young men after famine exposure in utero and early infancy. **New England Journal of Medicine**, v.295, p.349-353, 1976. (doi: 10.1056/NEJM197608122950701).

REID, K. J. et al. Aerobic exercise improves self-reported sleep and quality of life in older adults with insomnia. **Sleep medicine** v. 11, n. 9, p. 934–940 , 2011.

RINALDI, W. et al. Low-intensity and moderate exercise training improves autonomic nervous system activity imbalanced by postnatal early overfeeding in rats. **Journal of the International Society of Sports Nutrition** , v. 11, n. 1, p 1-9, 2014.

RÖCKL, K. S. C; WITCZAK, C. A.; GOODYEAR, L. J. Signaling mechanisms in skeletal muscle: Acute responses and chronic adaptations to exercise. **IUBMB Life** v. 60, n. 3, p. 145–153 , 2008.

RODRIGUES, A.G.; LIMA, N.R.; COIMBRA, C.C.; MARUBAYASHI. U.

Intracerebroventricular physostigmine facilitates heat loss mechanisms in running rats. **Journal of Applied Physiology**, v. 97, n. 1, p. 333–338, jul. 2004

SANTOS-MONTEIRO, J. et al. Estimulação psicossocial e plasticidade cerebral em desnutridos. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil** v. 2, n. 1, p. 15–22 , 2002.

TENA-SEMPERE, M.; BARREIRO, M. L. *Leptin in male reproduction: The testis paradigm* .**Molecular and Cellular Endocrinology**. v 188, p.9-13 , 2002.

VAAMONDE, D. et al. Response of semen parameters to three training modalities. **Fertility and Sterility** v. 92, n. 6, p. 1941–1946 , 2009.

VAN DE SANDE-LEE, S. ; VELLOSO, L. A. Disfunção hipotalâmica na obesidade Hypothalamic dysfunction in obesity. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia** v. 56, n. 6 , 2012.

WATERLAND, R. A.; GARZA, C. Potential mechanisms of metabolic imprinting that lead to chronic disease. **American Journal of Clinical Nutrition** v. 69, n. 2, p. 179–197 , 1999.

WINTERS, S. J. et al. Inhibin-B Levels in Healthy Young Adult Men and Prepubertal Boys: Is Obesity the Cause for the Contemporary Decline in Sperm Count Because of Fewer Sertoli Cells? **Journal of Andrology** v. 27, p. 560–564 , 2006.

WHO (World Health Organization). **WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen**. 5. ed. Geneva: WHO Press, 2010. 287p.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO), 2016. **Obesity and overweight**. Disponível: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/> Acessado em 9 de jun. 2017

WOLFENSOHN, S.; LLOYD, M. **Handbook of laboratory animal management and welfare**. New York: Oxford University Press Inc, 1994. 304p.

10. ANEXO



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS - CEUA**

CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo nº. 045/2015 - CEUA sobre "EFEITOS DE DIFERENTES TIPOS DE TREINAMENTO FÍSICO NO METABOLISMO, DESENVOLVIMENTO FÍSICO E REPRODUTIVO DE RATOS SUPERALIMENTADOS NA INFÂNCIA" projeto de pesquisa sob a responsabilidade de MARTHA DE OLIVEIRA GUERRA com a colaboração de CARLOS GABRIEL DE LADE, VERA MARIA PETERS, ANA ELIZA ANDREAZZI, VINICIUS MOREIRA GONÇALVES COSTA e MARIANA BOLOTARI está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) da PRÓ-REITORIA DE PESQUISA/UEFJ, em reunião realizada em 12/07/2016. Para o desenvolvimento da pesquisa serão utilizados 110 ratos Wistar (40 machos e 70 fêmeas) de 2 dias de idade, conforme solicitado e que serão utilizados no período de 01/08/2016 a 30/03/2020.

CERTIFICATE

We certify that the protocol nº. 045/2015 - CEUA about "EFEITOS DE DIFERENTES TIPOS DE TREINAMENTO FÍSICO NO METABOLISMO, DESENVOLVIMENTO FÍSICO E REPRODUTIVO DE RATOS SUPERALIMENTADOS NA INFÂNCIA" under responsibility of MARTHA DE OLIVEIRA GUERRA and collaboration of CARLOS GABRIEL DE LADE, VERA MARIA PETERS, ANA ELIZA ANDREAZZI, VINICIUS MOREIRA GONÇALVES COSTA and MARIANA BOLOTARI - is in agreement with the Ethical Principles in Animal Research adopted by Brazilian Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA) and was approved by the PRÓ-REITORIA DE PESQUISA/UEFJ - ETHICAL COMMITTEE FOR ANIMAL HANDLING (CEUA) in 12/07/2016. For the development of this research 110 Wistar rats (40 males and 70 females) of 2 days old, will be delivered as requested in the period of 01/08/2016 to 30/03/2020.

Juiz de Fora, 29 de julho de 2016



Coordenadora
CEUA



Vice-coordenadora
CEUA