

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA CRIANÇA E DO
ADOLESCENTE

**AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO ALIMENTAR,
DO METABOLISMO E DA PREFERÊNCIA POR
EXERCÍCIO FÍSICO NA VIDA ADULTA DE ANIMAIS
EXPOSTOS À RESTRIÇÃO DE CRESCIMENTO
INTRAUTERINO E AO EXERCÍCIO FÍSICO
VOLUNTÁRIO AO LONGO DO DESENVOLVIMENTO**

TESE DE DOUTORADO

FÁBIO DA SILVA CUNHA

Porto Alegre, Brasil

2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA CRIANÇA E DO
ADOLESCENTE

**AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO ALIMENTAR,
DO METABOLISMO E DA PREFERÊNCIA POR
EXERCÍCIO FÍSICO NA VIDA ADULTA DE ANIMAIS
EXPOSTOS À RESTRIÇÃO DE CRESCIMENTO
INTRAUTERINO E AO EXERCÍCIO FÍSICO
VOLUNTÁRIO AO LONGO DO DESENVOLVIMENTO**

FÁBIO DA SILVA CUNHA

A apresentação desta tese é exigência do Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, para obtenção do título de Doutor.

Orientador: Prof. Paulo José Cauduro Maróstica

Porto Alegre, Brasil

2017

CIP - Catalogação na Publicação

Cunha, Fábio da Silva
Avaliação do Comportamento Alimentar, do
Metabolismo e da Preferência por Exercício Físico na
Vida Adulta de Animais Expostos à Restrição de
Crescimento Intrauterino e ao Exercício Físico
Voluntário ao Longo do Desenvolvimento / Fábio da
Silva Cunha. -- 2017.
99 f.
Orientador: Paulo José Cauduro Maróstica.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-
Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente, Porto
Alegre, BR-RS, 2017.

1. Exercício Físico Voluntário. 2. Restrição de
Crescimento Intrauterino. 3. Roda de Corrida. I.
Maróstica, Paulo José Cauduro, orient. II. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE MEDICINA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA CRIANÇA E DO

ADOLESCENTE

ESTA TESE FOI DEFENDIDA PUBLICAMENTE EM:

28 / 11 / 2017

E, FOI AVALIADA PELA BANCA EXAMINADORA COMPOSTA POR:

Prof. Dr. Ivo Roberto Dorneles Prola
Departamento de Pediatria e Puericultura/UFSM
Universidade Federal de Santa Maria - RS

Profa. Dra. Cristiane Matté
Departamento de Bioquímica/UFRGS
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Profa. Dra. Juliana Rombaldi Bernardi
Departamento de Nutrição/PPGSCA
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

DEDICATÓRIA

À Tati, minha esposa, ao Pedro e a Alice meus filhos!

Obrigado pela compreensão, dedicação e paciência!

Sem vocês não teria nenhum sentido!

Amo vocês!!!

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Patrícia Pelufo Silveira, que apesar da distância, fez com que eu me sentisse muito próximo. Muito obrigado pelos ensinamentos, pelo exemplo e por me conduzir nesta caminhada.

Ao Prof. Dr. Paulo José Cauduro Maróstica, pois seus apontamentos e sua sensibilidade foram fundamentais para a conclusão deste trabalho.

Á minha colega Profa. Dra. Roberta Dalle Molle por dividir comigo seu tempo, seu conhecimento, seu café... e por me proporcionar momentos de aprendizagem durante nossas reuniões matinais (mesmo quando a Nina pegava minha caneta para brincar, ou me arranhava... ou quando me dava uma crise alérgica por causa dos pelos).

Ao grupo Dohad pelos incontáveis momentos de auxílio. Tania, Dani, Márcio, Amanda, Adrienne, Pati Miguel, Ana Carla. Vocês são especiais! Valeu pela parceria!

À equipe da Unidade de Experimentação Animal (UEA-HCPA), à Engenharia Biomédica, ao Departamento de Bioquímica e ao Departamento de Estatística do HCPA-UFRGS pelo apoio nos experimentos realizados.

Ao meu filho Pedro, que cresceu e compreendeu minha ausência! Mas agora TMJ!

Aos meus pais pelo incentivo e confiança.

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul e ao Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente pela oportunidade.

Ao CNPq, Capes e FIPE pelo apoio financeiro.

A todos que de forma direta ou indireta me auxiliaram na realização deste trabalho.

RESUMO

Introdução: O período intrauterino, a infância e a adolescência são caracterizados como fases críticas devido a alta plasticidade. Eventos que ocorrem nessas fases moldam o padrão de saúde do indivíduo ao longo da vida. Tentando mimetizar situações adversas que ocorrem em seres humanos como a restrição de crescimento intrauterino (RCIU), que é definida como condição em que o feto não alcança o tamanho esperado para certa idade gestacional, podem ser utilizados modelos animais. Animais que sofreram RCIU apresentam alterações na alimentação e no padrão de exercício físico voluntário. Assim, é possível que a prática regular de atividade física durante o desenvolvimento seja um importante fator modificador do comportamento nesses indivíduos. O objetivo deste trabalho foi avaliar se a exposição ao exercício físico voluntário durante o desenvolvimento, em um modelo animal de RCIU, afeta o comportamento alimentar, o peso, o metabolismo e a preferência por atividade física na vida adulta. Além disso, foram explorados possíveis mecanismos associados às alterações de comportamento com foco no sistema dopaminérgico mesocorticolímbico e nigroestriatal em ratos. **Métodos:** Ratas *Sprague Dawley* prenhes foram randomizadas para o grupo controle (*Ad libitum* - AdLib), que recebeu dieta padrão *ad libitum* ou grupo restrição 50% (GR50%), que recebeu 50% do consumo habitual de genitoras alimentadas *ad libitum*. As dietas foram oferecidas a partir do dia 10 até o dia 21 de gestação. Em até 24h após o nascimento, foi realizada a adoção cruzada formando os grupos: AdLib/AdLib (grupo controle), GR50%/AdLib (grupo RCIU). O desmame ocorreu no dia 21 de vida dos filhotes, sendo que estes foram randomizados por peso, ficando três machos por caixa, e expostos ao exercício ou não conforme os seguintes grupos: a) Roda trancada (RT); b) Roda livre (RL); c) Sem roda (SR). Foram avaliados: a quantidade de exercício físico voluntário medido por 24h nos dias 35, 49 e 63 de vida e, na vida adulta, o consumo de ração palatável, a preferência condicionada por lugar induzida pela roda de corrida, os exames bioquímicos, assim como os níveis de receptores D2 no estriado e no núcleo accumbens (NAc). As comparações entre os grupos neonatais (controle e RCIU) foram realizadas separadas por exposição ao exercício (RT, RL ou SR). **Resultados:** Não foi encontrada diferença entre os grupos RCIU e controle com relação à quantidade de exercício físico realizado, independentemente do tipo de exposição ao exercício ao longo do desenvolvimento. No teste de condicionamento por lugar, os animais RCIU expostos à RT condicionaram menos ao local pela presença da roda de corrida quando comparados aos animais controles também expostos à RT, no entanto essa diferença não apareceu quando os animais foram expostos à RL. O consumo total de ração palatável e o número médio de porções, no ciclo escuro, foram maiores no grupo RCIU sem acesso à roda de corrida (SR). Também, somente nos SR, o grupo RCIU pesou mais e apresentou maior percentual de gordura que o grupo controle. Porém, na presença da RL, o grupo controle pesou mais que o grupo RCIU. Os níveis de insulina foram maiores no grupo RCIU comparados ao grupo controle somente com a RL e, nas análises do índice *homeostatic model assessment* (HOMA-IR), o grupo RCIU apresentou resultados maiores, indicando maior resistência à insulina, do que o grupo controle, somente nos animais SR. Ao avaliar os níveis de receptores dopaminérgicos D2 no estriado e no NAc não foram observadas diferenças entre os grupos neonatais. **Conclusão:** Foi possível identificar que as diferentes exposições ao exercício alteraram o consumo de alimento palatável, o condicionamento de lugar na presença de uma recompensa, o peso corporal, os níveis de insulina e o HOMA-IR na vida adulta, principalmente no grupo dos animais expostos à RCIU, que apresentam maior risco para piores desfechos comportamentais, metabólicos e conseqüentemente maior chance de desenvolver doenças crônicas. Diferentemente do esperado, não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos neonatais expostos à RL ou RT ao longo do desenvolvimento nos níveis proteicos

de receptores D2 no núcleo accumbens e estriado. Assim, a presença da roda de corrida livre ou trancada durante o desenvolvimento apresentou benefícios para os animais quando comparada à situação de não acesso à roda de corrida. Pesquisas com novos delineamentos que envolvam o exercício de força e o controle das variáveis de treinamento físico deverão ser realizadas para complementar os resultados deste trabalho.

Palavras chave: Exercício físico voluntário, RCIU, roda de corrida.

ABSTRACT

Introduction: The intrauterine period, childhood and adolescence are characterized as critical phases due to high plasticity. Events that occur at these stages shape the individual's health pattern throughout life. Trying to mimic adverse events that occur in humans such as intrauterine growth restriction (IUGR), which is defined as a condition in which the fetus does not reach the expected size for a certain gestational age, animal models may be used. Animals that have undergone IUGR show changes in food consumption and voluntary exercise pattern. Thus, it is possible that regular practice of physical activity during development may be an important modifying factor of behavior in these individuals. The objective of this study was to evaluate whether exposure to voluntary physical exercise during development in an animal model of IUGR affects feeding behavior, weight, metabolism and preference for physical activity in adult life. In addition, possible mechanisms associated with behavioral changes with focus on the mesocorticolimbic and nigrostriatal dopaminergic system in rats were explored. **Methods:** Time-mated pregnant Sprague Dawley rats were randomized to the control group (*Ad libitum* - AdLib), which received *ad libitum* standard chow; or 50% restriction group (GR50%), receiving 50% of the *ad libitum*-fed dam's habitual intake. These diets were provided from day 10 until day 21 of gestation. Within 24 hours after birth, pups were cross-fostered, forming two groups: AdLib / AdLib (control group), GR50% / AdLib (IUGR group). Weaning occurred on the 21st day of pups' life. Pups were randomized by weight and three males were allocated per cage, and exposed to exercise or not according to the following groups: a) Locked running wheel (RT); b) unlocked running wheel (RL); c) Without running wheel (SR). The following variables were evaluated: the amount of voluntary physical exercise measured for 24h on days 35, 49 and 63 of life and, in adult life, the consumption of palatable food, conditioned place preference (CPP) induced by running wheel, biochemical tests, as well as the levels of D2 receptors in the striatum and nucleus accumbens (NAc). The comparisons between the neonatal groups (control and IUGR) were performed separately by exercise exposure (RT, RL or SR). **Results:** There was no difference between the IUGR and control groups regarding the amount of physical exercise performed, regardless of the type of exercise exposure during the development. In the CPP test, the IUGR animals exposed to RT conditioned less to the light side by the presence of the running wheel when compared to the control animals also exposed to RT, however this difference did not appear when the animals were exposed to the RL. The total consumption of palatable chow and the average number of bouts in the dark cycle were higher in the IUGR group without access to the running wheel (SR). Also, only in SR, the IUGR group weighed more and had a higher percentage of abdominal fat than the control group. However, in the presence of RL, the control group weighed more than the IUGR group. Insulin levels were higher in the IUGR group compared to the control group only with the RL and, in the homeostatic model assessment (HOMA-IR) analyzes, the IUGR group presented higher results indicating greater insulin resistance than the control group, only in SR condition. When assessing levels of dopaminergic D2 receptors in the striatum and NAc, no differences were observed between the neonatal groups. **Conclusion:** It was possible to identify that the different exposures to exercise altered the consumption of palatable food, the conditioning place preference in the presence of a reward, body weight, insulin levels and HOMA-IR in adult life, mainly in the group of animals exposed to IUGR, who are at greater risk for worse behavioral, metabolic outcomes and, consequently, a greater chance of developing chronic diseases. Differently from expected, no significant differences were found between neonatal groups exposed to RL or RT throughout development in D2 receptors protein levels in the

NAc and striatum. Thus, the presence of the running wheel unlocked or locked during the development presented benefits for the animals when compared to the situation of non access to the running wheel. Research with new designs that involve strength exercises and control the physical training variables should be performed to complement the results of this research.

Keywords: voluntary physical exercise, IUGR, running wheel.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: <i>Fetal programming alters gene expression, cardiometabolic status, muscle strength, metabolism and histology, leading to altered physical activity levels in individuals with IUGR</i>	53
Figura 2: <i>Exercise may act in specific vulnerabilities that IUGR individuals have, such as their increased risk for type II diabetes and adiposity, as well as hypothalamus-pituitary-axis (HPA) dysfunction</i>	54
Figura 3: Esquema dos grupos neonatais conforme exposição ou não ao exercício físico e participação nos testes comportamentais, bioquímicos neuroquímicos.....	60
Figura 4: Caixas moradias com rodas de corrida e contadores digitais.....	61
Figura 5: Aparato utilizado para o teste de preferência condicionada por lugar (CPP).....	62
Figura 6: Sistema computadorizado BioDAQ®, (A) a central de dados e (B) o computador periférico.....	64
Figura 7: Número de voltas dos grupos (A) controle_RL (n=4), (B) controle_RT (n=4), (C) RCIU_RL (n=4), (D) RCIU_RT (n=4) durante as 24h de avaliação do exercício físico voluntário.....	69
Figura 8: Tempo gasto no lado iluminado da caixa (delta = teste-basal) durante o teste de preferência condicionada por lugar - CPP (n= 6/grupo). Teste de <i>Mann-Whitney</i> (*p=0,025).....	73
Figura 9: Receptores D2 no estriado dos animais (A) RL (controle n=5 e RCIU n=7) e (B) RT (controle n=7 e RCIU n=6).....	79
Figura 10: Receptores D2 no núcleo accumbens dos animais (A) RL (controle n=5 e RCIU n=5) e (B) RT (controle n=6 e RCIU n=4).....	79

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: <i>Summary of clinical studies evaluating the relationship between IUGR and physical activity/sedentarism</i>	47
Tabela 2: <i>Physical activity levels reverse metabolic outcomes of LBW/IUGR</i>	49
Tabela 3: <i>Summary of the experimental data linking IUGR and physical activity levels</i>	50
Tabela 4: <i>Proposed mechanisms implied in the association between IUGR and lower physical activity levels</i>	52
Tabela 5: Comparação das médias dos escores do número de voltas da interação entre exercício e fase da vida no ciclo escuro.....	72
Tabela 6: Comparação das médias dos escores do número de voltas nas três fases da vida no ciclo claro.....	72
Tabela 7: Caracterização do consumo de ração palatável, no ciclo claro	75
Tabela 8: Caracterização do consumo de ração palatável, no ciclo escuro.....	76
Tabela 9: Dados bioquímicos dos grupos neonatal, expostos ou não ao exercício.....	78

LISTA DE ABREVIATURAS

AdLib	<i>Ad Libitum</i>
ACC2	<i>Acetyl-CoA carboxylase 2</i>
AGA	<i>Appropriate for gestational age</i>
ALSPAC	<i>Avon Longitudinal Study of Parents and Children</i>
AMPc	<i>Adenosina Monofosfatada Cíclica (do inglês, cyclic Adenosine Monophosphate)</i>
AMPK	<i>Activated protein kinase</i>
BCA	<i>Bicinchoninic acid</i>
BDNF	<i>Brain-derived neurotrophic factor</i>
BMI	<i>Body mass index</i>
BW	<i>Birth weight</i>
CEUA	Comitê de Ética no Uso de Animais
CD68	<i>Cluster of differentiation 68</i>
cpm	<i>Counts per minute</i>
CPP	<i>Conditioned Place Preference</i>
DA	Dopamina ou dopaminérgico
DOHaD	<i>Developmental origins of health and disease</i>
DTT	<i>Dithiothreitol</i>
EP	Erro padrão da média
FPG	<i>Fasting Plasma Glucose</i>
FPI	<i>Fasting Plasma Insulin</i>
GEE	<i>Generalized estimating equation</i>
GPPG	Grupo de Pesquisa e Pós Graduação
GR50%	Grupo Restrição 50 por cento
HCPA	Hospital de Clínicas de Porto Alegre

HOMA-IR	<i>Homeostasis model assessment of insulin</i>
HPA	<i>Hypothalamus-pituitary-axis</i>
IUGR	<i>Intrauterine growth restriction</i>
LBW	<i>Low birth weight</i>
LDL	<i>Low density lipoprotein</i>
LDS	<i>Lithium dodecyl sulfate</i>
LTPA	<i>Leisure time physical activity</i>
MET	<i>Metabolic Equivalent of Task</i>
mRNA	<i>Messenger ribonuclei acid</i>
NAc	Núcleo accumbens
O ₂	Oxigênio
OXPHOS	<i>Oxidative phosphorylation</i>
PKA	Proteína cinase A (<i>Protein Kinase A</i>)
PA	<i>Physical activity</i>
RCIU	Restrição de crescimento intrauterino
RL	Roda livre
rpm	Rotações por minuto
RT	Roda trancada
SBCAL/COBEA	Sociedade Brasileira da Ciência em Animais de Laboratório
SGA	<i>Small for gestational age</i>
SNC	Sistema Nervoso Central
SPSS	<i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
SR	Sem roda
UEA	Unidade Experimental Animal
VLBW	<i>Very low birth weight</i>
VTA	Área Tegmental Ventral

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	17
2. REVISÃO DA LITERATURA	20
3. JUSTIFICATIVA	55
4. OBJETIVOS	55
4.1. Objetivo geral	55
4.2. Objetivos específicos	56
5. METODOLOGIA DO ESTUDO EXPERIMENTAL	56
5.1. Animais	56
5.2. Exercício físico voluntário durante o desenvolvimento	60
5.3. Teste de preferência condicionada por lugar (<i>Conditioned Place Preference</i> – CPP) induzida pela roda de corrida	61
5.4. Consumo alimentar	63
5.5. Dissecção das estruturas e armazenamento das amostras	64
5.6. <i>Western Blot</i>	65
5.7. Gordura Abdominal	66
5.8. Análises bioquímicas	66
5.9. Considerações éticas	66
5.10. Análises Estatísticas	67
6. RESULTADOS DO ESTUDO EXPERIMENTAL	69
6.1. Exercício Físico Voluntário	69
6.2. Teste de preferência condicionada por lugar induzida pela roda de corrida	72
6.3. Peso corporal antes do BioDAQ®	73
6.4. Comportamento alimentar	74
6.5. Peso corporal antes da decapitação	76

6.6. Gordura Abdominal	77
6.7. Análises Bioquímicas	77
6.8. Análises Neuroquímicas	78
7. DISCUSSÃO	80
8. CONCLUSÃO.....	88
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	90

1. INTRODUÇÃO

Nos anos de 1980 surgiu a hipótese do fenótipo poupador propondo que a exposição a um ambiente desfavorável no início da vida, principalmente insuficiência nutricional, levaria o feto a ser “metabolicamente programado” com o objetivo de economizar energia, em favor do crescimento e da sobrevivência, porém uma série de alterações na vida adulta como sobrepeso, aterosclerose e resistência à insulina estariam ligadas a esta forma persistente de “programação” (BARKER *et al.*, 1993; GODFREY e BARKER, 2000; SINGHAL *et al.*, 2004; SINGHAL *et al.*, 2007).

Além do período intrauterino, a infância e a adolescência também são caracterizadas como fases críticas devido a alta plasticidade (KHAZIPOV e LUHMANN, 2006; CREWS *et al.*, 2007). Portanto eventos que ocorrem em períodos plásticos do desenvolvimento podem ajudar a moldar a saúde do indivíduo (BERENSON *et al.*, 1998; TWISK *et al.*, 1997). Assim, a exposição a um estímulo adverso pode ter consequências ruins e causar alterações persistentes no funcionamento do organismo (SILVEIRA *et al.*, 2007).

A restrição de crescimento intrauterino (RCIU), condição em que o feto não alcança o tamanho esperado para certa idade gestacional, está relacionada a causas intrínsecas e/ou extrínsecas, sendo que um importante fator envolvido no crescimento fetal é a passagem de nutrientes através da placenta. A disponibilidade dos nutrientes pode ser afetada pelo estado nutricional materno, dieta materna, exposição ao álcool, fumo, poluentes e determinados fatores sociais durante a gestação (CETIN, MANDO e CALABRESE, 2013). Há associação entre a RCIU e elevadas taxas de morbidade e mortalidade que podem variar conforme o tipo de restrição. Para Barker (2004), os eventos ocorridos na vida fetal, juntamente com a exposição aos fatores ambientais ao

longo da vida, levariam ao maior ou menor risco de aparecimento de doenças crônicas na vida adulta (BARKER *et al.*, 1989; GODFREY e BARKER, 2001), tais como doença cardiovascular (Barker *et al.*, 2005), hipertensão arterial (LAW *et al.*, 2002), resistência à insulina, diabetes mellitus tipo 2 (BARKER, 1999; ERIKSSON *et al.*, 2002) e obesidade (RAVELLI *et al.*, 1999; PILGAARD *et al.*, 2011).

Em humanos, a RCIU está relacionada com alterações no comportamento alimentar, sendo que já foi observada preferência por carboidratos (BARBIERI *et al.*, 2009) e por alimentos ricos em gordura e/ou açúcar na vida adulta (LUSSANA *et al.*, 2008; DALLE MOLLE *et al.*, 2015b). Resultados semelhantes foram encontrados em animais que sofreram RCIU que demonstraram preferência por alimento palatável (dieta rica em açúcar e gordura), e essa preferência está relacionada com alterações nos sistemas opioide (LAUREANO *et al.*, 2016) e dopaminérgico (ALVES *et al.*, 2015; DALLE MOLLE *et al.*, 2015a). Além das alterações na alimentação, também foram observadas diferenças no padrão de exercício físico voluntário em animais que sofreram RCIU. Esses animais apresentaram modificações nos níveis de exercício físico voluntário quando adultos, sendo essa diferença sexo-específica. Machos com RCIU se exercitam menos e as fêmeas com RCIU se exercitam mais comparados ao grupo controle (CUNHA *et al.*, 2015). Todos esses estudos demonstraram que adversidades vivenciadas no período inicial da vida se relacionam com alterações na ingestão alimentar e também na atividade física, sendo essa última, um componente sensível a mudanças relacionadas à intensidade do exercício físico (D'ORNER, 1974; WATERLAND, 2014).

Evero *et al.* (2012) mostraram que o exercício físico atua diretamente em regiões corticais responsáveis pela recompensa alimentar produzindo reduções das respostas neuronais, causando menor ingestão alimentar, prazer e motivação pelo alimento. Tanto

o hipotálamo, que atua na regulação homeostática, quanto determinadas áreas do córtex e do sistema mesocorticolímbico, responsáveis pelo entendimento das experiências prévias com diferentes alimentos, recompensas e emoções estão envolvidas no controle do comportamento alimentar (ZHENG *et al.*, 2005; MORTON *et al.*, 2006; BERTHOUD e MORRISON, 2008; NOGUEIRAS *et al.*, 2012). A via de neurônios dopaminérgicos que compreende a área tegumentar ventral (VTA), o núcleo accumbens (NAc) e o córtex pré-frontal é aceita como o principal circuito envolvido nos comportamentos motivacionais associados à recompensa (VOLKOW e FOWLER, 2000; BAIK, 2013; SCHULTZ, 2013). Outra via dopaminérgica importante é a via nigroestriatal, que inicia no VTA e termina no estriado, e está envolvida no controle da atividade motora (MACHADO e HAERTEL, 2013). Os receptores de dopamina (DARs), que pertencem ao grupo de receptores acoplados à proteína G, estão amplamente distribuídos pelo sistema nervoso central (SNC) e as funções de alguns desses receptores nas vias mesolímbica e nigroestriatal são bastante estudadas. Na família de receptores *D1-like* incluem-se os DARs D1 e D5, enquanto que os DARs da família *D2-like* consistem em D2, D3 e D4 (SCARR *et al.*, 2013; RANGEL-BARAJAS *et al.*, 2015). Os receptores de dopamina do tipo D2 estão envolvidos tanto no controle da locomoção (ZHANG *et al.* 2007) quanto no condicionamento por recompensa (MISSALE *et al.* 1998) e inibem o acúmulo da AMPc (*cyclic adenosine monophosphate*) intracelular e da proteína quinase A (PKA) (BEAULIEU e GAINETDINOV, 2011). No NAc e no estriado, esses receptores D2 quando inibidos prejudicam o condicionamento a recompensa, e desempenham importante papel na ansiedade, depressão e abuso de drogas (MISSALE *et al.*, 1998; BEAULIEU e GAINETDINOV, 2011; RANGEL-BARAJAS *et al.*, 2015).

Assim, a prática regular de atividade física, principalmente durante o desenvolvimento, pode ser um importante fator modificador do comportamento que proporciona bem-estar físico e emocional, além de possibilitar evoluções na qualidade de vida (MINOR *et al.*, 1989; PAFFENBARGER *et al.*, 2001), melhorar o estado de humor, e combater a obesidade (GURWITZ, 2000; SHARP, 1998). Ao contrário, a inatividade física está associada a um aumento do risco de desenvolvimento de uma série de doenças degenerativas e crônicas (MINOR *et al.*, 1989).

2. REVISÃO DA LITERATURA

Is willingness to exercise programmed in utero? Reviewing sedentary behavior and the benefits of physical activity in intrauterine growth restricted individuals

Running title: Fetal programming of energy expenditure

**Adrianne Rahde Bischoff¹, *Fábio da Silva Cunha², Roberta Dalle Molle², Paulo José Cauduro Maróstica² Patrícia Pelufo Silveira^{2,3},*

1) Division of Neonatology in the Department of Pediatrics, University of Toronto and the Hospital for Sick Children, Toronto, Ontario, Canada.

2) Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente, Departamento de Pediatria, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brazil.

3) Ludmer Centre for Neuroinformatics and Mental Health, Douglas Mental Health University Institute, McGill University, Montreal, Québec, Canada

* These two authors contributed equally to the work

Adrienne Rahde Bischoff: adrienne.bischoff@sickkids.ca ; <http://lattes.cnpq.br/9789329292674281>

Fábio da Silva Cunha: fs.cunha@hotmail.com ; <http://lattes.cnpq.br/4063144002091318>

Roberta Dalle Molle: betinha_dm@yahoo.com ; <http://lattes.cnpq.br/1191630672979991>

Paulo José Cauduro Maróstica: pmarostica@hcpa.edu.br ; <http://lattes.cnpq.br/3670840568837700>

Patrícia Pelufo Silveira: patricia.silveira@mcgill.ca ; <http://lattes.cnpq.br/4583835222018610>

Corresponding author: Adrienne Rahde Bischoff. Division of Neonatology in the Department of Pediatrics, University of Toronto and the Hospital for Sick Children, 555 University Avenue, Toronto, Ontario, M5G 1X8, Canada. Phone: 416-813-7654 ext. 228902 E-mail: adrienne.bischoff@sickkids.ca

Funding Source: No funding was secured for this study.

Financial Disclosure: The authors have no financial disclosures to make.

Conflict of Interest: The authors have no conflicts of interest to disclose.

Is willingness to exercise programmed in utero? Reviewing sedentary behavior and the benefits of physical activity in intrauterine growth restricted individuals

Short title: Fetal programming of energy expenditure

ABSTRACT

Objective: The literature suggests that a fetus will adapt to surrounding adversities by optimizing its use of energy to improve survival, ultimately leading to the programming of the individual's energy intake and expenditure. While recent reviews focused on the fetal programming of energy intake and food preferences, there is also some evidence that fetal adversity is associated with diminished physical activity levels. Therefore, we aimed to review a) the evidence for an association between being born IUGR and sedentarism over the life-course and b) the potential benefits of physical activity over cardiometabolic risk factors for this population. Sources: PubMed, Scielo, Scopus and Embase. Summary of findings: Most clinical studies that used objective measures found no association between IUGR and physical activity levels, while most studies that used self-reported questionnaires revealed such relationships, particularly leisure time physical activity. Experimental studies support the existence of fetal programming of physical activity, and show that exposure to exercise during IUGR individuals' life improves metabolic outcomes but less effect was seen on muscle architecture or function. Conclusions: Alterations in muscle strength and metabolism, as well as altered aerobic performance, may predispose IUGR individuals to be spontaneously less physically active, suggesting that this population may be an important target for preventive interventions. Although very heterogeneous, the different studies allow us to infer that physical activity may have beneficial effects especially for individuals that are more vulnerable to metabolic modifications such as those with IUGR.

Keywords: DOHaD; IUGR; physical activity; sedentary behavior

Introduction:

The Developmental Origins of Health and Disease (DOHaD) concept aims to study the consequences that adverse events occurring during early phases of human development have on disease and health patterns over the life course ^(1, 2). Another interesting aspect related to this field of research relates to the programming of a behavior, such as food intake, feeding preferences or willingness to engage in physical activities, that ultimately may contribute to the development of such diseases. While most of DOHaD field has focused on how fetal programming may affect histological, anatomical or metabolic markers, it is intriguing to think that neurobiological changes that affect behaviors may also be equally affected by adversity in vulnerable periods such as fetal life/infancy/adolescence. Behaviors involving “will” or “choices” are usually closely associated to free will in human nature, and it may be uncomfortable to suggest that this may be shaped by neurologic and genetic determinants and influenced by the environment ⁽³⁾. Is it possible that the biological parameters can define our own free selves? As stated by David Goldman, “individual free will, and by extension the autonomy of groups of people, are parameters whose existence can be derived from the inheritance of cognitive structures and variation in these structures due to neurodevelopmental adaptation” ⁽³⁾.

One way to measure intrauterine adversity relates to poor fetal growth. Intrauterine growth restriction (IUGR) is the inability of the fetus to achieve its full potential growth ⁽⁴⁾ which can be caused by, but not restricted to, placental insufficiency ^(5, 6), maternal malnutrition and smoking ⁽⁷⁾, congenital infections and anomalies, drugs, obesity and chromosomal abnormalities ^(4, 8). The estimated burden of IUGR is very high considering that in low and middle-income countries, for instance, IUGR accounts for 27% of live births ⁽⁹⁾. Additionally, IUGR has been linked to non-communicable

diseases later in life, such as metabolic syndrome ^(2, 10, 11), type II diabetes ⁽¹¹⁾ and cardiovascular diseases ⁽¹²⁾.

The thrifty phenotype hypothesis proposes that the fetus adapts to surrounding adversities (e.g. lack of nutrients) by optimizing its use of energy to improve survival ^(1, 2). This ultimately leads to the programming of the individual's energy intake and expenditure ⁽¹³⁻¹⁵⁾. Regarding energy intake, our group has spent the last few years studying the programming of food preferences towards highly caloric palatable foods ⁽¹⁶⁻²¹⁾. On the other hand, it is interesting to acknowledge that adverse events in the early development can cause behavioral consequences. When considering the expenditure, there is also evidence that this population may have diminished physical activity levels ^(22, 23), contributing to increased storage and consequent predisposition to altered metabolic states.

Experimental studies have shown that IUGR offspring are less active when compared to those born with normal birth weight ⁽²³⁻²⁵⁾. Evidence of lower levels of leisure-time physical activity and increased levels of sedentary behavior have already been demonstrated by some clinical studies ^(22, 26-30), while others have reported controversial results, without any association between low birth weight and lower levels of physical activity ⁽³¹⁻³⁶⁾.

Additionally, considering the detrimental effects of IUGR later in life, some studies have also focused on the potential benefits that physical activity can have on metabolic outcomes of this at-risk population ⁽³⁷⁾. It appears that exercise may attenuate cardiometabolic risk factors such as glucose intolerance ⁽²⁹⁾, insulin resistance ⁽³⁸⁾ and poor lipid profile ⁽³⁹⁾ especially in the IUGR population in which these risk factors are more prevalent.

In this review we summarize the available clinical and experimental evidence regarding: 1) the effects of IUGR on sedentary behavior and physical activity levels, and 2) the potential benefits of exercise interventions to attenuate negative cardiometabolic effects of IUGR. Furthermore, we explore some mechanisms that are likely implicated in these associations.

Clinical evidence of the fetal programming of energy expenditure

The general environmental message during intrauterine life of an IUGR fetus is of a paucity of nutrients, therefore organs and systems are programmed to save energy⁽¹⁵⁾. The fetal programming of energy expenditure, including diminished physical activity levels and body lean mass, saves energy for growth and fat accumulation. Additionally, muscle strength is directly associated with physical activity levels⁽⁴⁰⁾, so it is likely that IUGR individuals may exercise less because of lacking appropriate musculature^(41, 42). There is a large heterogeneity in the literature regarding the study of variables related to sedentarism and physical activity. While some studies use objective measurements, such as accelerometer, others use self-reported questionnaires and measures such as leisure time physical activity (LTPA). Accelerometer, for instance, can estimate total activity with an average counts per minute (cpm) over the valid measurement period^(43, 44). The cut off to define moderate to vigorous physical activity also uses the average cpm but in terms of time spent each day on such activity⁽⁴⁵⁾. Nonobjective measurements include LTPA, measured through questionnaires that evaluate the frequency and duration of different conditioning (such as running, swimming) and non-conditioning (such as gardening, household work) activities^(46, 47). Different questionnaires have been validated for different time frames, ranging from a recall time of 1 week⁽⁴⁸⁾ to 12 months⁽⁴⁷⁾.

Sedentarism is defined according to the time spent on physical activity and the cut off points are also variable among the different studies, ages and methodologies used. For instance, in adolescents a sedentary lifestyle is considered as less than 300 minutes of physical activity per week measured through questionnaires⁽⁴⁹⁾ whereas in adults it is considered as less than 150 minutes per week⁽³⁰⁾. Different studies convert questionnaire responses into Metabolic Equivalent of Task (MET)-min/week and use METs cutoffs to define sedentarism⁽²²⁾. Similarly, sedentary behavior has been defined as <100cpm in children using accelerometer⁽⁵⁰⁾. Therefore, when considering the different studies, one should keep in mind the specific concepts and constructs being evaluated. We separate the studies into those using objective and self-reported questionnaire data, and thereafter discuss the potential benefits of physical activity to IUGR individuals. **Table 1** summarizes the main characteristics of the clinical studies.

Studies using objective measures to assess the association between IUGR and physical activity

Kehoe et al evaluated accelerometer measures in children (6 to 10 year-olds) in rural India. There were 8% of small for gestational age (SGA) children in the sample (considered as a birth weight of <2.5 kg) and birth weight varied from 1.57 to 4.75kg. There were no significant associations between any of the anthropometric measures at birth and the physical activity variables⁽³⁶⁾. It is interesting to notice that in this study socio economic status was negatively associated with physical activity. Although the data were not shown, the authors described that separate analysis for SGA and preterm were conducted and that there was a trend for SGA to be less active. It seems to us that the definition of SGA was not adequate and the use of other definitions for SGA (i.e.:

smaller than 10th percentile or birth weight ratio <0.85) would result in a larger proportion of low birth weight for a given gestational age in the population described.

The ALSPAC (Avon Longitudinal Study of Parents and Children) cohort included a large sample of school-aged children and there was no relationship between physical activity levels, measured through accelerometer, and any of the neonatal anthropometrics measurements (birth weight, ponderal index, head circumference) or gestational age⁽⁴³⁾. Birth weight was used as a continuous variable but the study did not categorize individuals as SGA or IUGR.

Another study included four birth cohorts from European countries and Brazil⁽³²⁾ and found no significant association between birth weight and objectively measured physical activity. The cohort from Brazil that was included in this study revealed results in the opposite direction, with higher birth weight being associated with lower levels of activity⁽³²⁾.

Kaseva et al used the same methodology with accelerometer to objectively measure physical activity levels in a cohort (Helsinki Study) of very low birth weight (VLBW) ($<1500\text{g}$) young adults⁽⁵¹⁾. Overall there were no differences in physical activity levels or sedentary time between VLBW and control participants.

Hildebrand et al and Ekelund et al used the International Children's Accelerometry Database^(31, 52) and found that birth weight was positively associated with sedentary time and with waist circumference⁽³¹⁾. There were no data regarding gestational age, so the authors could not differentiate between low birth weight caused by IUGR or by prematurity. In 2014 van Deutekom et al described that birth weight was not related to either physical activity or sedentary behavior⁽⁵³⁾.

Studies using self-report questionnaires to assess the association between IUGR and physical activity

Two other studies were performed in the previously described Helsinki cohort^(28, 47), but assessed physical activity through questionnaires of LTPA. The study by Kaseva et al found markedly reduced LTPA in VLBW adults when compared to controls⁽⁴⁷⁾. Kajantie et al described similar findings⁽²⁸⁾. When asked about the amount of time spent in physical activity during their leisure time, VLBW individuals had significant less time devoted to LTPA when compared to controls (35% versus 25%). It is important to notice that the VLBW sample included 30% SGA, while the control sample had no SGAs. Subgroup analysis comparing VLBW SGA and VLBW born appropriate for gestational age (AGA) revealed no differences in any of the physical activity variables, nor birth weight SD score and gestational age as continuous variables within the VLBW group. In this study, IUGR does not seem to be implicated in the findings and it is likely that the association is attributable to prematurity⁽²⁸⁾.

In a sample of both children and adults born IUGR, teachers reported lower ability in sports in 13 year-olds and lower self-reported LTPA in adulthood⁽⁵⁴⁾. A meta-analysis by Andersen et al included a wide range of age groups, from 14 to 74 years old, derived from 13 Nordic cohorts⁽²⁶⁾. Both low and high birth weight were associated with lower LTPA levels in women and men.

Some studies explored other possible factors interacting with birth weight to influence sedentary behavior levels, such as education and socioeconomic status. A cohort of young adults by Fernandes et al found an association between sedentary and LBW conditioned to individuals who have higher educational levels⁽²²⁾. Another Brazilian cohort revealed an inverse association between birth weight and LTPA in women but found that socioeconomic status was also related to exercise levels⁽³⁰⁾. Hallal et al had

similar conclusions to lower birth weight being associated with sedentary behavior at 10-12 years old. Other risk factors for sedentary behavior were higher maternal education and family income, similarly to the other two studies described. From the different studies, it is possible to apprehend that socio-economic variables (both income and education) deeply affect the association between birth weight and sedentary behavior, either when comparing different social extracts within a specific community or when comparing studies performed in countries from diverse economic profile.

Benefits of physical activity in IUGR individuals

In 2014 Gatford et al comprised a review of clinical and experimental evidence that exercise can improve metabolic outcomes after IUGR ⁽⁵⁵⁾. It is clear that IUGR adults benefit from physical activity when it comes to cardiometabolic outcomes but it is still unclear whether these benefits are different when comparing IUGR to normal birth weight individuals. **Table 2** summarizes the main evidence about cardiometabolic effects of exercise in IUGR individuals.

Aoyama et al studied 379 adults (20-64 years), evaluating their homeostasis model assessment of insulin (HOMA-IR) and cardiorespiratory fitness. Lower birth weight and cardiorespiratory fitness were associated with increased HOMA-IR, while BMI and abdominal circumference were positively associated with HOMA-IR. Further analysis using HOMA-IR as an independent variable, adjusted for cardiorespiratory fitness, little modified the association between birth weight and insulin resistance. Lifestyle factors may be more important than birth weight since the major predictor of insulin resistance was cardiorespiratory fitness⁽⁵⁶⁾.

Ridgway et al evaluated a younger population (9-15 years) with accelerometer measurements to verify whether physical activity and aerobic fitness could modify the

association between birth weight and metabolic outcomes. Birth weight was not associated with fasting insulin, except when the model was adjusted for adolescent waist circumference. The data were little modified even after further adjustment for time spent exercising⁽⁵⁷⁾. It is possible that the young age of evaluation may play a role in these findings, considering that changes in metabolism may still not be present at this age.

One study conducted in India included young healthy men (18-22 years), excluding obese and those using medications that could alter the glucose profile, for a bicycle-based intervention over 6 weeks in order to evaluate changes in glucose metabolism. Approximately half of the sample comprised men born with LBW. Baseline data revealed no significant differences in either fasting plasma glucose or insulin levels between LBW and normal birth weight groups. Fasting plasma insulin levels, HOMA-IR and insulin secretion (HOMA-IS) improved equally after the intervention in both groups⁽⁵⁸⁾. One limitation is that the study selected only healthy individuals. Since IUGR is a known risk factor for metabolic syndrome^(2, 10, 11) and type II diabetes⁽¹¹⁾, the exclusion of individuals with altered metabolic states (obese and those using medications) may lead to the false conclusion that they would not benefit even more from an exercise intervention.

Redmond et al evaluated differential outcomes of an exercise intervention in the metabolic profile of adults born small for gestational age. Individuals born with normal birth weight had a better pre-training lipid profile (particularly total and LDL cholesterol). Following training, group differences between total and LDL cholesterol disappeared. The increased risk of chronic diseases in those born with IUGR may be attenuated through lifestyle changes such as implementing an exercise routine⁽³⁹⁾.

Among the studies showing beneficial effects of exercise, Eriksson et al evaluated older adults and showed that frequent or moderate weekly exercise was associated with better glucose tolerance and this effect was even stronger among those born with small size at birth. Furthermore, men that were born small exercised more in adulthood than their controls, which could be interpreted as an adaptive response of survival of the fittest in this high-risk group.⁽²⁹⁾ Also investigating adults, Laaksonen et al found that small size at birth was associated with metabolic syndrome features even prior to the development of diabetes or cardiovascular disease. The association was no longer present when regular vigorous LTPA or good cardiorespiratory fitness were taken into consideration⁽³⁸⁾.

Two studies in adolescents were favorable to physical activity as an attenuator of altered metabolic outcomes for those born small^(59, 60). The first one found that as birth weight decreases, leptin levels increase in girls not meeting the physical activity recommendations (≥ 60 minutes/day of moderate to vigorous physical activity). There was no association between leptin levels and birth weight in those meeting the physical activity recommendations⁽⁵⁹⁾. Serum leptin levels are increased in obese people, who seem to develop a leptin resistance status, and it has already been shown that LBW is associated with higher serum leptin levels in female adolescents⁽⁶¹⁾. The second article showed that higher levels of physical activity played a role in altering the association between LBW and HOMA-IR⁽⁶⁰⁾.

Although the cohorts and studies are heterogeneous in terms of many variables such as age, country of origin and type of physical activity, it seems that physical training may have beneficial effects especially for individuals that are more vulnerable to metabolic modifications such as those born with LBW.

Experimental evidence

The effects of intrauterine growth restriction on physical activity levels:

Similarly to what was described in the clinical studies, experimental evidence also suffers from heterogeneity in the methodology used to assess physical activity. Spontaneous physical activity is measured either by filming the cage, by infrared spectroscopy or by digital counter attached to running wheels. **Table 3** summarizes the main characteristics of the outcomes of experimental studies.

In order to identify changes in physical activity levels among female mice that were born IUGR, Baker et al tested animals born from lean and obese dams, with all animals being fostered to lean dams. IUGR was noted in the offspring of obese dams. Female animals born from obese dams had reduced levels of spontaneous physical activity and energy expenditure, with increased rates of adult obesity⁽⁶²⁾. Kaur et al induced IUGR through surgical manipulation of endometrial placental attachment sites of ewes and measured spontaneous physical activity in the offspring. Placental restriction and low birth weight were associated with greater spontaneous ambulatory activity⁽⁶³⁾.

Cunha et al evaluated spontaneous physical activity in rats born with IUGR (dams receiving a 50% food restricted diet from day 10 of pregnancy until birth) versus rats born from dams receiving an *ad libitum* diet and rats born from dams receiving high-fat diet. Both extreme groups (50% food restricted and high fat diets during pregnancy) had IUGR pups at birth, and both had different physical activity levels when compared to controls. However, there were opposite effects in different sexes: females from the extreme groups had increased physical activity in comparison to controls, while males from the extreme groups showed decreased activity in relation to controls⁽²³⁾. Considering that alterations in the mesolimbic system could be a possible mechanism to explain the effect observed in physical activity, D2 receptors in the dorsal striatum were

assessed, and females from the food restricted group had decreased striatal D2 receptor levels when compared to the control group ⁽²³⁾.

Bellinger et al. fed pregnant rats with either a control or a low protein diet in different gestational periods (early, mid or late). Offspring locomotor activity was measured with an infrared sensor array. A low protein diet in all gestational periods was significantly associated with lower locomotor activity in female offspring, while in male offspring the effect was observed only when the low protein diet was offered in early pregnancy ⁽²⁵⁾.

Vickers et al compared adult rats born from dams submitted to an undernourished diet during pregnancy versus controls. IUGR animals (born from dams receiving an undernourished diet during pregnancy) were more sedentary when compared to controls, regardless of the postnatal diet (standard or hypercaloric). The effect occurred in both genders but was more pronounced in males ⁽²⁴⁾. In the study by Miles et al, the animals were given the choice between wheel running and pressing a response lever for food. IUGR offspring (born from undernourished dams) revealed a greater preference for exercise when compared to ad libitum offspring ⁽⁶⁴⁾.

Exercise intervention to attenuate metabolic outcomes of IUGR in animals

Garg et al conducted a trial of early exercise training to analyze its effect on glucose kinetics. Pregnant rats were divided to receive either a normal or a restricted diet during days 11 to 21 of gestation. An exercise training intervention in the offspring was able to suppress glucose-stimulated insulin production and hepatic glucose production, leading to an overall improvement on insulin sensitivity ⁽⁶⁵⁾. A short period of exercise training in pups was associated with significant increases in β -cell mass for all animals and this early exercise restored β -cell mass to control levels in IUGR offspring. However, insulin secretion was not altered by the intervention ⁽⁶⁶⁾.

Miles et al. was able to demonstrate that daily exercise in adult IUGR rats prevented the development of obesity. Although IUGR offspring had increased adiposity compared to controls, insulin resistance was not observed. Daily physical activity prevented the development of obesity and had positive effects on metabolic parameters in IUGR offspring ⁽⁶⁷⁾. In a different study, physical activity also affected leptin content of the adipose tissue in IUGR rats. Offspring from low-protein diet fed dams had increased leptin in the visceral tissue but this was reversed by exercise ⁽⁶⁸⁾. Swimming in IUGR rats also prevented glucose intolerance from developing as well as reducing adiposity in another sample ⁽⁶⁹⁾. Adult IUGR female rats exercised continuously for 60 minutes during pregnancy also had enhanced peripheral insulin sensitivity although in this sample this was associated with IUGR in the offspring ⁽⁷⁰⁾.

Other interesting effects of physical activity in IUGR rats concern the proportion of muscle fibers ⁽⁷¹⁾, improvements in Angiotensin II-induced vasoconstriction, alterations related to superoxide levels ⁽⁷²⁾ and improvements in endothelium-derived hyperpolarization-mediated vasodilation in muscle arteries ⁽⁷³⁾. In contrast, study by Maux et al found that moderate physical training did not modify structural changes associated with malnutrition on the common left carotid and horizontal aorta arteries wall ⁽⁷⁴⁾. Using a different methodology with bilateral uterine vessel ligation or sham surgery in pregnant dams to induce IUGR, Laker et al did not find any reprogramming effects related to exercise in skeletal muscle markers of mitochondrial biogenesis in adulthood ⁽⁷⁵⁾.

Therefore, from the different experimental studies, it is possible to infer that there is evidence to support the existence of a fetal programming effect on physical activity/sedentary behavior later in life. In addition, exposure to exercise during the life course seems to be able to revert some of the detrimental effects of being born IUGR,

especially regarding metabolic outcomes, although less consistent reversion is seen on the damages found on muscle architecture or function.

Mechanisms

Some of the possible mechanisms implied in the above-mentioned alterations in physical activity levels in IUGR were already described among the experimental results (**Table 3**). There are other articles focusing on these mechanisms in clinical studies that will be described here (**Table 4**).

The most commonly studied mechanism involves changes in muscle strength. As previously stated, poorer muscle strength is associated with less physical activity levels. The positive association between birth weight and handgrip strength has been described in different age groups: in childhood ^(76, 77), young adults ⁽⁴¹⁾, adults and elderly ⁽⁷⁸⁻⁸¹⁾. Low muscle strength has already been associated with metabolic risk factors such as blood pressure, HOMA-IR and triglycerides in school-aged children ⁽⁸²⁾. Dodds et al. conducted a systematic review and meta-analysis and found 19 studies confirming this association, which is maintained across the life course ⁽⁴²⁾. Each kilogram increase in birth weight resulted in a 2.07kg and 1.59kg increase in muscle strength in men and women respectively.

One study concluded that poor fetal growth affects muscle force generation, based on the findings of lower grip strength, lower maximal isometric voluntary contraction of the quadriceps femurs, increased rates of fatigue pre- and post- training and decreased training response in those born with low ponderal index ⁽⁴¹⁾. Jensen et al investigated changes in skeletal muscle morphology and showed an altered proportion of different muscle fibers in young IUGR adults. It was hypothesized that increased fiber size may be an early marker of insulin resistance in this population⁽⁸³⁾.

Furthermore, Brons et al evaluated the effects of LBW on mitochondrial dysfunction in skeletal muscle. The study confirmed previous findings of abnormal glucose metabolism in LBW individuals. However, there was no indication that mitochondrial dysfunction could be the key to explaining the metabolic defects underlying insulin resistance ⁽⁸⁴⁾.

Other articles found differences in lactate muscle metabolism ⁽⁸⁵⁾, CD68 mRNA expression suggesting macrophage infiltration and reduced oxidative phosphorylation (OXPHOS) gene expression when exposed to bed rest ⁽⁸⁶⁾, as well as skeletal muscle insulin signaling ⁽⁸⁷⁾. Mortensen et al suggested that LBW could have a more sensitive AMPK (AMP-activated protein kinase) system, supported by the evidence of an increased exercise-induced AMPK activation as well as increased effects on the downstream target ACC2 (acetyl coenzyme A carboxylase 2) in LBW subjects ⁽⁸⁸⁾. Additionally, Ylihärsilä et al concluded that LBW is associated with lower lean mass in adult life and this contributes to the risk of relative sarcopenia and the related functional inability later in life ⁽⁸¹⁾.

In another study, prenatal undernutrition caused a reduction in muscle fiber size. Exercise did not affect fiber type composition. The activity of enzymatic markers of oxidative and glycolytic pathways was significantly different in those that were born IUGR. Overall, physical activity prevented obesity in IUGR offspring ⁽⁸⁹⁾.

Finally, some authors described a decreased cardiorespiratory/ aerobic capacity in those born with low birth weight ^(79, 90-92). Van Deutekom et al results indicate that LBW and accelerated infant growth might negatively affect childhood aerobic and neuromuscular fitness ⁽⁷⁶⁾. Others reported that the energy cost of running was higher among children born preterm SGA when compared to term controls, with no differences between preterm AGA and term controls ⁽⁹³⁾. Running speed performance was also

diminished in another sample of LBW children ⁽⁷⁷⁾. Experimental data showed reduced cardiac performance in male IUGR offspring as well as increased superoxide generation ⁽⁹⁴⁾. **Figure 1** delineates the factors affecting physical activity levels related to IUGR.

Conclusions and future directions:

As Gatford et al. have previously pointed out, there is some evidence linking IUGR to altered physical activity levels as well as describing potential beneficial outcomes of exercise intervention on metabolic outcomes, however few studies have been conducted and results are mixed ⁽⁵⁵⁾. Most clinical studies have focused on cardiovascular performance and muscle alterations that could help explain the decreased physical activity levels in this population. Experimental studies, on the other hand, have gone somewhat further, exploring changes in insulin sensitivity, leptin secretion, vascular and muscle structure and function. Still, little is known about the neurobiological mechanisms that may influence sedentary behavior.

Exercise benefits a whole range of human conditions, not only related to physical health, but also mental health. Physical activity, either aerobic, resistance or coordination training, benefits cognitive function in the elderly ⁽⁹⁵⁾. It also increases brain connectivity between the frontal, posterior, and temporal cortices, affects hippocampal volume and serum levels of brain-derived neurotrophic factor (BDNF), a mediator of neurogenesis in the dentate gyrus of the hippocampus ⁽⁹⁵⁾. **(Figure 2)**.

From a neurobiological standpoint, exercise influences cortisol, endocannabinoids, BDNF, dopamine and serotonin releases. The stress response associated with exercise induces inhibitory effects from the secreted cortisol upon the hypothalamus and pituitary through medial prefrontal cortex receptors and reduces stress-induced over excitability of the amygdala. Additionally, by reducing the amount

of competitive amino acids through muscle uptake, aerobic exercise increases tryptophan's chances of crossing the blood–brain barrier, and so has the potential to increase serotonin, an important neurotransmitter for emotional processing, satiety and memory functions ⁽⁹⁶⁾. These are some of the potential targets of future research, especially exploring the neurobiological effects of exercise in vulnerable populations such as those born IUGR. Therefore, further research would benefit from targeting IUGR individuals for structured interventions in well-designed, large-scale longitudinal studies, to investigate the potential benefits of physical training. In addition, basic neurobiological investigations detailing the effects of exercise specifically in this group could unravel mechanisms that would better tailor such interventions.

References

1. Silveira PP, Portella AK, Goldani MZ, Barbieri MA. Developmental origins of health and disease (DOHaD). *J Pediatr (Rio J)*. 2007;83(6):494-504.
2. Hales CN, Barker DJ. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. *Diabetologia*. 1992;35(7):595-601.
3. Goldman D. Our Genes, Our Choices. How genotype and gene interactions affect behavior. In: Elsevier, editor. 2012. p. 1-4.
4. Salam RA, Das JK, Bhutta ZA. Impact of intrauterine growth restriction on long-term health. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2014;17(3):249-54.
5. Miller J, Turan S, Baschat AA. Fetal growth restriction. *Semin Perinatol*. 2008;32(4):274-80.
6. Roberts DJ, Post MD. The placenta in pre-eclampsia and intrauterine growth restriction. *J Clin Pathol*. 2008;61(12):1254-60.
7. Black RE, Victora CG, Walker SP, Bhutta ZA, Christian P, de Onis M, et al. Maternal and child undernutrition and overweight in low-income and middle-income countries. *Lancet*. 2013;382(9890):427-51.
8. Bamberg C, Kalache KD. Prenatal diagnosis of fetal growth restriction. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2004;9(5):387-94.
9. Lee AC, Katz J, Blencowe H, Cousens S, Kozuki N, Vogel JP, et al. National and regional estimates of term and preterm babies born small for gestational age in 138 low-income and middle-income countries in 2010. *Lancet Glob Health*. 2013;1(1):e26-36.
10. Roseboom TJ, van der Meulen JH, Ravelli AC, van Montfrans GA, Osmond C, Barker DJ, et al. Blood pressure in adults after prenatal exposure to famine. *J Hypertens*. 1999;17(3):325-30.
11. Eriksson JG, Forsén T, Tuomilehto J, Jaddoe VW, Osmond C, Barker DJ. Effects of size at birth and childhood growth on the insulin resistance syndrome in elderly individuals. *Diabetologia*. 2002;45(3):342-8.
12. Barker DJ, Osmond C, Forsén TJ, Kajantie E, Eriksson JG. Trajectories of growth among children who have coronary events as adults. *N Engl J Med*. 2005;353(17):1802-9.
13. Barker DJ, Hales CN, Fall CH, Osmond C, Phipps K, Clark PM. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus, hypertension and hyperlipidaemia (syndrome X): relation to reduced fetal growth. *Diabetologia*. 1993;36(1):62-7.
14. Dulloo AG, Jacquet J, Seydoux J, Montani JP. The thrifty 'catch-up fat' phenotype: its impact on insulin sensitivity during growth trajectories to obesity and metabolic syndrome. *Int J Obes (Lond)*. 2006;30 Suppl 4:S23-35.
15. Portella AK, Silveira PP. Neurobehavioral determinants of nutritional security in fetal growth-restricted individuals. *Ann N Y Acad Sci*. 2014;1331:15-33.
16. Barbieri MA, Portella AK, Silveira PP, Bettiol H, Agranonik M, Silva AA, et al. Severe intrauterine growth restriction is associated with higher spontaneous carbohydrate intake in young women. *Pediatr Res*. 2009;65(2):215-20.
17. Alves MB, Molle RD, Desai M, Ross MG, Silveira PP. Increased palatable food intake and response to food cues in intrauterine growth-restricted rats are related to tyrosine hydroxylase content in the orbitofrontal cortex and nucleus accumbens. *Behav Brain Res*. 2015.

18. Molle RD, Laureano DP, Alves MB, Reis TM, Desai M, Ross MG, et al. Intrauterine growth restriction increases the preference for palatable foods and affects sensitivity to food rewards in male and female adult rats. *Brain Res.* 2015.
19. Laureano DP, Dalle Molle R, Alves MB, Luft C, Desai M, Ross MG, et al. Intrauterine growth restriction modifies the hedonic response to sweet taste in newborn pups - Role of the accumbal mu-opioid receptors. *Neuroscience.* 2016;322:500-8.
20. Laureano DP, Molle RD, Portella AK, Silveira PP. Facial Expressions in Small for Gestational Age Newborns. *J Child Neurol.* 2015.
21. Ayres C, Agranonik M, Portella AK, Filion F, Johnston CC, Silveira PP. Intrauterine growth restriction and the fetal programming of the hedonic response to sweet taste in newborn infants. *Int J Pediatr.* 2012;2012:657379.
22. Fernandes FS, Portella AK, Barbieri MA, Bettiol H, Silva AAM, Agranonik M, et al. Risk factors for sedentary behavior in young adults: similarities in the inequalities. *Journal of developmental origins of health and disease.* 2010;1(4):255-61.
23. Cunha FdS, Dalle Molle R, Portella AK, Benetti CdS, Noschang C, Goldani MZ, et al. Both food restriction and high-fat diet during gestation induce low birth weight and altered physical activity in adult rat offspring: the "Similarities in the Inequalities" model. *PloS one.* 2015;10(3):e0118586-e.
24. Vickers MH, Breier BH, McCarthy D, Gluckman PD. Sedentary behavior during postnatal life is determined by the prenatal environment and exacerbated by postnatal hypercaloric nutrition. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2003;285(1):R271-3.
25. Bellinger L, Sculley DV, Langley-Evans SC. Exposure to undernutrition in fetal life determines fat distribution, locomotor activity and food intake in ageing rats. *Int J Obes (Lond).* 2006;30(5):729-38.
26. Andersen LG, Angquist L, Gamborg M, Byberg L, Bengtsson C, Canoy D, et al. Birth weight in relation to leisure time physical activity in adolescence and adulthood: meta-analysis of results from 13 nordic cohorts. *PLoS One.* 2009;4(12):e8192.
27. Rogers M, Fay TB, Whitfield MF, Tomlinson J, Grunau RE. Aerobic capacity, strength, flexibility, and activity level in unimpaired extremely low birth weight (≤ 800 g) survivors at 17 years of age compared with term-born control subjects. *Pediatrics.* 2005;116(1):E58-E65.
28. Kajantie E, Strang-Karlsson S, Hovi P, Raikonen K, Pesonen A-K, Heinonen K, et al. Adults Born at Very Low Birth Weight Exercise Less than Their Peers Born at Term. *Journal of Pediatrics.* 2010;157(4):610-U130.
29. Eriksson JG, Yliharsila H, Forsen T, Osmond C, Barker DJP. Exercise protects against glucose intolerance in individuals with a small body size at birth. *Preventive Medicine.* 2004;39(1):164-7.
30. MR A, BL H, DP G, CG V, FC B. Fatores associados ao sedentarismo no lazer de adultos na coorte de nascimentos de 1982, Pelotas, RS. *Revista de Saúde Pública.* 2008;42:70-7.
31. Hildebrand M, Kolle E, Hansen BH, Collings PJ, Wijndaele K, Kordas K, et al. Association between birth weight and objectively measured sedentary time is mediated by central adiposity: data in 10,793 youth from the International Children's Accelerometry Database. *American Journal of Clinical Nutrition.* 2015;101(5):983-90.
32. Ridgway CL, Brage S, Sharp SJ, Corder K, Westgate KL, van Sluijs EM, et al. Does Birth Weight Influence Physical Activity in Youth? A Combined Analysis of Four Studies Using Objectively Measured Physical Activity. *Plos One.* 2011;6(1).
33. Mattocks C, Deere K, Leary S, Ness A, Tilling K, Blair SN, et al. Early life determinants of physical activity in 11 to 12 year olds: cohort study. *Br J Sports Med.* 2008;42(9):721-4.

34. Campbell CP, Barnett AT, Boyne MS, Soares-Wynter S, Osmond C, Fraser RA, et al. Predictors of physical activity energy expenditure in Afro-Caribbean children. *Eur J Clin Nutr.* 2010;64(10):1093-100.
35. Hallal PC, Dumith SC, Ekelund U, Reichert FF, Menezes AM, Victora CG, et al. Infancy and childhood growth and physical activity in adolescence: prospective birth cohort study from Brazil. *Int J Behav Nutr Phys Act.* 2012;9:82.
36. Kehoe SH, Krishnaveni GV, Veena SR, Hill JC, Osmond C, Kiran, et al. Birth size and physical activity in a cohort of Indian children aged 6-10 years. *J Dev Orig Health Dis.* 2012;3(4):245-52.
37. Siebel AL, Carey AL, Kingwell BA. Can exercise training rescue the adverse cardiometabolic effects of low birth weight and prematurity? *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology.* 2012;39(11):944-57.
38. Laaksonen DE, Lakka HM, Lynch J, Lakka TA, Niskanen L, Rauramaa R, et al. Cardiorespiratory fitness and vigorous leisure-time physical activity modify the association of small size at birth with the metabolic syndrome. *Diabetes Care.* 2003;26(7):2156-64.
39. Redmond JG, Gage TB, Kiyamu M, Brutsaert TD. The Effect of Intra-Uterine Growth Restriction on Blood Lipids and Response to Exercise Training. *American Journal of Human Biology.* 2013;25(6):844-6.
40. Dodds R, Kuh D, Aihie Sayer A, Cooper R. Physical activity levels across adult life and grip strength in early old age: updating findings from a British birth cohort. *Age Ageing.* 2013;42(6):794-8.
41. Brutsaert TD, Tamvada KH, Kiyamu M, White DD, Gage TB. Low ponderal index is associated with decreased muscle strength and fatigue resistance in college-aged women. *Early Human Development.* 2011;87(10):663-9.
42. Dodds R, Denison HJ, Ntani G, Cooper R, Cooper C, Sayer AA, et al. Birth weight and muscle strength: a systematic review and meta-analysis. *J Nutr Health Aging.* 2012;16(7):609-15.
43. Mattocks C, Ness A, Deere K, Tilling K, Leary S, Blair SN, et al. Early life determinants of physical activity in 11 to 12 year olds: cohort study. *BMJ.* 2008;336(7634):26-9.
44. Mattocks C, Ness A, Leary S, Tilling K, Blair SN, Shield J, et al. Use of accelerometers in a large field-based study of children: protocols, design issues, and effects on precision. *J Phys Act Health.* 2008;5 Suppl 1:S98-111.
45. Mattocks C, Leary S, Ness A, Deere K, Saunders J, Tilling K, et al. Calibration of an accelerometer during free-living activities in children. *Int J Pediatr Obes.* 2007;2(4):218-26.
46. De Backer G, Kornitzer M, Sobolski J, Dramaix M, Degre S, de Marneffe M, et al. Physical activity and physical fitness levels of Belgian males aged 40-55 years. *Cardiology.* 1981;67(2):110-28.
47. Kaseva N, Wehkalampi K, Strang-Karlsson S, Salonen M, Pesonen A-K, Raikonen K, et al. Lower Conditioning Leisure-Time Physical Activity in Young Adults Born Preterm at Very Low Birth Weight. *Plos One.* 2012;7(2).
48. IPAQ. Guidelines for Data Processing and Analysis of the International Physical Activity Questionnaire (IPAQ) – Short and Long Forms. 2005.
49. Hallal PC, Wells JC, Reichert FF, Anselmi L, Victora CG. Early determinants of physical activity in adolescence: prospective birth cohort study. *BMJ.* 2006;332(7548):1002-7.

50. Evenson KR, Catellier DJ, Gill K, Ondrak KS, McMurray RG. Calibration of two objective measures of physical activity for children. *J Sports Sci.* 2008;26(14):1557-65.
51. Kaseva N, Martikainen S, Tammelin T, Hovi P, Jarvenpaa A-L, Andersson S, et al. Objectively Measured Physical Activity in Young Adults Born Preterm at Very Low Birth Weight. *Journal of Pediatrics.* 2015;166(2):474-6.
52. Ekelund U, Wijndaele K, Sherar L, Cooper A. Birth weight, sedentary time and abdominal adiposity in youth: The international children's accelerometry database (ICAD). *Journal of Science and Medicine in Sport.* 2012;15:S41.
53. van Deutekom A, Chin-A-Paw M, Vrijkotte T, Gemke R. Early Programming Of Physical Activity And Sedentary Behaviour At Primary School Age. *The Abcd-study.* 2014;99(Suppl 2):A90.
54. Elhakeem A, Cooper R, Bann D, Kuh D, Hardy R. Birth Weight, School Sports Ability, and Adulthood Leisure-Time Physical Activity. *Med Sci Sports Exerc.* 2017;49(1):64-70.
55. Gatford KL, Kaur G, Falcao-Tebas F, Wadley GD, Wlodek ME, Laker RC, et al. Exercise as an intervention to improve metabolic outcomes after intrauterine growth restriction. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism.* 2014;306(9):E999-E1012.
56. Aoyama T, Tsushita K, Miyatake N, Numata T, Miyachi M, Tabata I, et al. Does Cardiorespiratory Fitness Modify the Association between Birth Weight and Insulin Resistance in Adult Life? *Plos One.* 2013;8(9).
57. Ridgway CL, Brage S, Anderssen SA, Sardinha LB, Andersen LB, Ekelund U. Do physical activity and aerobic fitness moderate the association between birth weight and metabolic risk in youth?: the European Youth Heart Study. *Diabetes Care.* 2011;34(1):187-92.
58. Madsen C, Mogensen P, Thomas N, Christensen DL, Bygbjerg IC, Mohan V, et al. Effects of an outdoor bicycle-based intervention in healthy rural Indian men with normal and low birth weight. *Journal of developmental origins of health and disease.* 2015;6(1):27-37.
59. Labayen I, Ortega FB, Moreno LA, Gonzalez-Gross M, Jimenez-Pavon D, Martinez-Gomez D, et al. Physical activity attenuates the negative effect of low birth weight on leptin levels in European adolescents; The HELENA study. *Nutrition Metabolism and Cardiovascular Diseases.* 2013;23(4):344-9.
60. Ortega FB, Ruiz JR, Hurtig-Wennlof A, Meirhaeghe A, Gonzalez-Gross M, Moreno LA, et al. Physical Activity Attenuates the Effect of Low Birth Weight on Insulin Resistance in Adolescents Findings From Two Observational Studies. *Diabetes.* 2011;60(9):2295-9.
61. Labayen I, Ruiz JR, Huybrechts I, Ortega FB, Rodríguez G, Dehenauw S, et al. Sexual dimorphism in the early life programming of serum leptin levels in European adolescents: the HELENA study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96(8):E1330-4.
62. Baker MS, Li G, Kohorst JJ, Waterland RA. Fetal growth restriction promotes physical inactivity and obesity in female mice. *Int J Obes (Lond).* 2015;39(1):98-104.
63. Kaur M, Wooldridge AL, Wilkes MJ, Pitchford WS, Hynd PI, McConell GK, et al. Placental restriction in multi-fetal pregnancies increases spontaneous ambulatory activity during daylight hours in young adult female sheep. *Journal of developmental origins of health and disease.* 2016:1-13.
64. Miles JL, Landon J, Davison M, Krägeloh CU, Thompson NM, Triggs CM, et al. Prenatally undernourished rats show increased preference for wheel running v. lever pressing for food in a choice task. *Br J Nutr.* 2009;101(6):902-8.

65. Garg M, Thamocharan M, Oak SA, Pan G, MacLaren DC, Lee PWN, et al. Early exercise regimen improves insulin sensitivity in the intrauterine growth-restricted adult female rat offspring. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 2009;296(2):E272-E81.
66. Laker RC, Gallo LA, Wlodek ME, Siebel AL, Wadley GD, McConell GK. Short-term exercise training early in life restores deficits in pancreatic beta-cell mass associated with growth restriction in adult male rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2011;301(5):E931-40.
67. Miles JL, Huber K, Thompson NM, Davison M, Breier BH. Moderate daily exercise activates metabolic flexibility to prevent prenatally induced obesity. *Endocrinology*. 2009;150(1):179-86.
68. de Melo Montenegro IH, Moita L, Dos Reis FK, de Oliveira E, Lisboa PC, de Moura EG, et al. Effects of a moderate physical training on the leptin synthesis by adipose tissue of adult rats submitted to a perinatal low-protein diet. *Horm Metab Res*. 2012;44(11):814-8.
69. Corvino SB, Volpato GT, Rudge MV, Damasceno DC. Intrauterine Growth Restricted Rats Exercised before and during Pregnancy: Maternal and Perinatal Repercussions. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2015;2015:294850.
70. Corvino SB, Damasceno DC, Sinzato YK, Netto AO, Macedo NCD, Zambrano E, et al. Comparative analysis of two different models of swimming applied to pregnant rats born small for pregnant age. *An Acad Bras Cienc*. 2017;89(1):223-30.
71. Leandro CG, da Silva Ribeiro W, Dos Santos JA, Bento-Santos A, Lima-Coelho CH, Falcão-Tebas F, et al. Moderate physical training attenuates muscle-specific effects on fibre type composition in adult rats submitted to a perinatal maternal low-protein diet. *Eur J Nutr*. 2012;51(7):807-15.
72. Oliveira V, Akamine EH, Carvalho MH, Michelini LC, Fortes ZB, Cunha TS, et al. Influence of aerobic training on the reduced vasoconstriction to angiotensin II in rats exposed to intrauterine growth restriction: possible role of oxidative stress and AT2 receptor of angiotensin II. *PLoS One*. 2014;9(11):e113035.
73. Reyes LM, Morton JS, Kirschenman R, DeLorey DS, Davidge ST. Vascular effects of aerobic exercise training in rat adult offspring exposed to hypoxia-induced intrauterine growth restriction. *J Physiol*. 2015;593(8):1913-29.
74. De Sa Xerita Maux DA, de Araujo TN, Viana MT, Paes ST, Andrade MdA, Arruda de Moraes SR. Influence of Moderate Physical Training on The Artery Wall Structure of Rats Submitted to Gestational and Neonatal Protein Malnutrition. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*. 2009;15(5).
75. Laker RC, Wlodek ME, Wadley GD, Gallo LA, Meikle PJ, McConell GK. Exercise early in life in rats born small does not normalize reductions in skeletal muscle PGC-1 α in adulthood. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2012;302(10):E1221-30.
76. van Deutekom AW, Chinapaw MJ, Vrijkotte TG, Gemke RJ. The association of birth weight and infant growth with physical fitness at 8-9 years of age-the ABCD study. *Int J Obes (Lond)*. 2015;39(4):593-600.
77. Moura-Dos-Santos M, Wellington-Barros J, Brito-Almeida M, Manhaes-de-Castro R, Maia J, Leandro CG. Permanent deficits in handgrip strength and running speed performance in low birth weight children. *American Journal of Human Biology*. 2013;25(1):58-62.
78. Inskip HM, Godfrey KM, Martin HJ, Simmonds SJ, Cooper C, Sayer AA, et al. Size at birth and its relation to muscle strength in young adult women. *J Intern Med*. 2007;262(3):368-74.

79. Ridgway CL, Ong KK, Tammelin T, Sharp SJ, Ekelund U, Jarvelin MR. Birth size, infant weight gain, and motor development influence adult physical performance. *Med Sci Sports Exerc.* 2009;41(6):1212-21.
80. Kuh D, Bassey J, Hardy R, Aihie Sayer A, Wadsworth M, Cooper C. Birth weight, childhood size, and muscle strength in adult life: evidence from a birth cohort study. *Am J Epidemiol.* 2002;156(7):627-33.
81. Yliharsila H, Kajantie E, Osmond C, Forsen T, Barker DJP, Eriksson JG. Birth size, adult body composition and muscle strength in later life. *International Journal of Obesity.* 2007;31(9):1392-9.
82. Cohen DD, Gómez-Arbeláez D, Camacho PA, Pinzon S, Hormiga C, Trejos-Suarez J, et al. Low muscle strength is associated with metabolic risk factors in Colombian children: the ACFIES study. *PLoS One.* 2014;9(4):e93150.
83. Jensen CB, Storgaard H, Madsbad S, Richter EA, Vaag AA. Altered skeletal muscle fiber composition and size precede whole-body insulin resistance in young men with low birth weight. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92(4):1530-4.
84. Brons C, Jensen CB, Storgaard H, Alibegovic A, Jacobsen S, Nilsson E, et al. Mitochondrial function in skeletal muscle is normal and unrelated to insulin action in young men born with low birth weight. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.* 2008;93(10):3885-92.
85. Brutsaert TD, Tamvada KH, Kiyamu M, White DD, Gage TB. Response to an aerobic training intervention in young adults depends on ponderal index at birth. *Journal of developmental origins of health and disease.* 2012;3(6):424-32.
86. Friedrichsen M, Ribel-Madsen R, Mortensen B, Hansen CN, Alibegovic AC, Højbjerg L, et al. Muscle inflammatory signaling in response to 9 days of physical inactivity in young men with low compared with normal birth weight. *Eur J Endocrinol.* 2012;167(6):829-38.
87. Mortensen B, Friedrichsen M, Andersen NR, Alibegovic AC, Højbjerg L, Sonne MP, et al. Physical inactivity affects skeletal muscle insulin signaling in a birth weight-dependent manner. *J Diabetes Complications.* 2014;28(1):71-8.
88. Mortensen B, Hingst JR, Frederiksen N, Hansen RWW, Christiansen CS, Iversen N, et al. Effect of birth weight and 12 weeks of exercise training on exercise-induced AMPK signaling in human skeletal muscle. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism.* 2013;304(12):E1379-E90.
89. Huber K, Miles JL, Norman AM, Thompson NM, Davison M, Breier BH. Prenatally Induced Changes in Muscle Structure and Metabolic Function Facilitate Exercise-Induced Obesity Prevention. *Endocrinology.* 2009;150(9):4135-44.
90. Cafiero G, Fintini D, Brufani C, Fiori R, Giordano U, Turchetta A, et al. Cardiovascular fitness is impaired in children born small for gestational age. *Acta Paediatrica.* 2014;103(5):E219-E21.
91. Lawlor DA, Cooper AR, Bain C, Davey Smith G, Irwin A, Riddoch C, et al. Associations of birth size and duration of breast feeding with cardiorespiratory fitness in childhood: findings from the Avon Longitudinal Study of Parents and Children (ALSPAC). *Eur J Epidemiol.* 2008;23(6):411-22.
92. Boreham CA, Murray L, Dedman D, Davey Smith G, Savage JM, Strain JJ. Birthweight and aerobic fitness in adolescents: the Northern Ireland Young Hearts Project. *Public Health.* 2001;115(6):373-9.
93. Baraldi E, Zanconato S, Zorzi C, Santuz P, Benini F, Zacchello F. EXERCISE PERFORMANCE IN VERY-LOW-BIRTH-WEIGHT CHILDREN AT THE AGE OF 7-12 YEARS. *European Journal of Pediatrics.* 1991;150(10):713-6.

94. Reyes LM, Kirschenman R, Quon A, Morton JS, Shah A, Davidge ST. Aerobic exercise training reduces cardiac function in adult male offspring exposed to prenatal hypoxia. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2015;309(5):R489-98.
95. Ballesteros S, Kraft E, Santana S, Tziraki C. Maintaining older brain functionality: A targeted review. *Neurosci Biobehav Rev.* 2015;55:453-77.
96. Heijnen S, Hommel B, Kibele A, Colzato LS. Neuromodulation of Aerobic Exercise-A Review. *Front Psychol.* 2015;6:1890.

Tables and Figure Legends:

Table 1: Summary of clinical studies evaluating the relationship between IUGR and physical activity/ sedentarism.

Table 2: Physical activity levels effects on metabolic outcomes of LBW/ IUGR

Table 3: Summary of the experimental data linking IUGR and physical activity levels

Table 4: Proposed mechanisms implied in the association between IUGR and lower physical activity levels.

Figure 1: Fetal programming alters gene expression, cardiometabolic status, muscle strength, metabolism and histology, leading to altered physical activity levels in individuals with IUGR. Age, culture, exposure, sleep quality, socioeconomic status, neighborhood safety, screen time and indoor activities also moderate the association between birth weight and sedentary behavior.

Figure 2: Exercise may act in specific vulnerabilities that IUGR individuals have, such as their increased risk for type II diabetes and adiposity, as well as hypothalamus-pituitary-axis (HPA) dysfunction. Moreover, exercise acts in several brain areas and processes, such as increasing neurogenesis and neuroplasticity and therefore influences behavior. Adapted and modified from Yi SS. Effects of exercise on brain functions in diabetic animal models. World J Diabetes. 2015;6(4):583-97.

Table 1: Summary of clinical studies evaluating the relationship between IUGR and physical activity/ sedentarism.

Author/ Year (reference number)	Age in years (Number of participants)	Tool	Definitions	Outcome
Objectively measured				
Kehoe, 2012 ⁽³⁶⁾	6-10 (449)	Accelerometer for 7 days	<100 cpm: sedentary behavior 100-2291 cpm: light activity 2292-4007 cpm: moderate activity >4008 com: vigorous activity	No associations between body size and skinfold thickness at birth and physical activity levels
Mattocks, 2007 ⁽⁴³⁾	11-12 (5451)	Accelerometer for 7 days + record of swimming/ cycling time	>3600 cpm: moderate to vigorous activity	BW has no influence in physical activity levels
Ridgway, 2011 ⁽³²⁾	9-15 (4170)	Accelerometer ≥ 3 days	<100 cpm: sedentary time >2000 cpm: moderate and vigorous activity	No association between BW and total physical activity. One cohort showed a association between higher BW and lower levels of total physical activity
Kaseva, 2015 ⁽⁵¹⁾	22-30 (104)	Accelerometer ≥ 3 days	<320 cpm, <1.5 METs: sedentary time 1048-1624 cpm, 3-6 METs: moderate PA >1624, >6 METs: vigorous PA ≥1048 com, ≥3 METs: moderate-to-vigorous PA	No significant difference in physical activity levels or sedentary time in VLBW compared to term controls (same cohort as Kajantie, 2010 ⁽²⁸⁾)
Hildebrand , 2015 ⁽³¹⁾ and Ekelund, 2012 ⁽⁵²⁾	6-18 (10,793)	Accelerometer	<100 cpm: sedentary time >3000 cpm: moderate-to- vigorous PA	BW positively associated with sedentary time
Van Deutekom, 2014 ⁽⁵³⁾	8-9 (183)	Accelerometer	>3000 cpm: moderate activity Minutes sedentary per day	LBW was not associated with either physical activity or sedentary time
Questionnaires				
Kaseva, 2012 ⁽⁴⁷⁾	22-30 (195)	12 month recall questionnaire	Conditioning LTPA (running, skiing, swimming), non- conditioning LTPA (household work, gardening, shoveling snow), PA from commuting to work. Frequency, duration and average intensity	VLBW undertake less leisure-time physical activity (same cohort as Kajantie, 2010 ⁽²⁸⁾)

Kajantie, 2010 ⁽²⁸⁾	18.5-27.1 (351)	Questionnaire	Occupational, commuting, and leisure-time non-conditioning physical activity. Frequency, duration and intensity.	VLBW exercise less than adults born at term (30% vs 0% were SGA in the VLBW sample)
Andersen, 2009 ⁽²⁶⁾	14-74 (43,482)	LTPA Questionnaire	Duration, frequency and/or intensity	Reverse U-shaped association between BW and leisure time physical activity
Fernandes, 2010 ⁽²²⁾	22-23 (2057)	1 week recall questionnaire	Active: >7 days of combined activities reaching at least 3000 METs or intense activity for at least 3 days reaching a minimum of 1500 METs; Sufficiently active: ≥5 days of combined activities reaching at least 600 METs or >5 days of walking for a minimum of 30 min/day or >5 days of moderate activity for at least 30 min/day or >3 days of intense activity for at least 20 min/day; Sedentary: when the level of physical activity was below the above descriptions	LBW is a risk factor for sedentary behavior
Azevedo, 2008 ⁽³⁰⁾	21-23 (4297)	1 week recall questionnaire	Sedentary: <150 minutes/week of PA	BW inversely associated with sedentarism only in women
Hallal, 2006 ⁽⁴⁹⁾	10-12 (4453)	Questionnaire	Sedentary lifestyle: <300 minutes/week of PA	Lower BW associated with increased sedentary time
Elhakeem, 2016 ⁵⁴	13-68 (2739)	LTPA Questionnaire	Inactive: no participation in LTPA; Moderately: up to four times in LTPA; Regularly active: five or more times in LTPA (in the previous month at age 36 yr, per month at age 43 yr, and in the previous 4 wk at ages 53, 60–64, and 68 yr).	LBW was associated with lower ability in school sports and with nonparticipation in LTPA across adulthood.

Table 2: Physical activity levels effects on metabolic outcomes of LBW/ IUGR

Author/ Year	Age in years (Number of participants)	Outcome
Aoyama, 2013 ⁵⁶	20-64 (379)	BW and cardiorespiratory fitness inversely associated with HOMA-IR
Eriksson, 2004 ⁽²⁹⁾	65-75 (500)	Regular and moderate exercise protects against glucose intolerance in elderly people with increased risk of developing Type 2 diabetes (born with LBW)
Labayan, 2013 ⁵⁹	12-17 (538)	Meeting the physical activity recommendations may attenuate the negative effect of LBW on serum leptin levels
Laaksonen, 2013 ⁽³⁸⁾	42-60 (462)	Regular vigorous leisure-time physical activity or good cardiorespiratory fitness seems to attenuate the association of LBW with insulin resistance and metabolic syndrome
Madsen, 2015 ⁵⁸	19-21 (117)	LBW benefits metabolically from exercise training to an extent comparable with NBW controls
Ortega, 2011 ⁶⁰	12-17 (846)	Higher levels of physical activity may attenuate the adverse effects of LBW on insulin sensitivity in adolescents
Redmond, 2013 ⁽³⁹⁾	20 (36)	Low Ponderal Index have poorer lipid profile and improve values with training
Ridgway, 2011 ⁵⁷	9-15 (1254)	Physical activity does not modify the association between LBW and insulin resistance

Table 3: Summary of the experimental data linking IUGR and physical activity levels

Author/ Year	Sex	Age	Species	Tool	Outcome
Baker, 2015 ⁶²	Male and Female	40 days	Agouti viable yellow mice	PA measured by beam breaks: activity, ambulatory movement along the length of the cage and rearing.	IUGR female exercise less and have increased adiposity
Bellinger, 2006 ⁽²⁵⁾	Male and Female	13 months	Wistar rats	Infra-red beams to monitor animal motion	Decreased locomotor activity in animals born from dams fed with a low protein diet
Corvino, 2015 ⁶⁹	Female	90 days	Wistar rats	Swimming three times per week	Glucose intolerance was reversed in IUGR exposed to a swimming program
Corvino, 2017 ⁷⁰	Female	90 days	Wistar rats	Swimming three times per week	Enhanced peripheral insulin sensitivity in exercised female rats.
Cunha Fda, 2015 ⁽²³⁾	Male and Female	60 days	Sprague-Dawley rats	Spontaneous activity in running wheels	Both undernutrition and overnutrition in pregnancy leads to LBW. LBW animals exercise less.
De Melo Montenegro, 2012 ⁶⁸	Male	8 weeks	Wistar rats	Exercise training on a motorized treadmill	Physical activity attenuates effects of IUGR on the leptin content in visceral adipose tissue
Garg, 2009 ⁽⁶⁵⁾⁵	Male and Female	60 days	Sprague-Dawley rats	Exercise training on a motorized treadmill	Exercise training in IUGR offspring improves insulin sensitivity
Huber, 2009 ⁸⁹	Male and female	250 days	Wistar rats	Forced exercise in running wheels	Daily exercise decreases adiposity in IUGR offspring
Kaur, 2016 ⁽⁶³⁾³	Male and female	240 days	Merino × Border Leicester ewes	Spontaneous ambulatory activity measured with a Garmin attached to a collar	Spontaneous ambulatory activity negatively correlated with birth weight in females
Laker, 2012 ⁷⁵	Male	24 weeks	Wistar rats	Exercise training on a motorized treadmill	Exercise for IUGR does not alter deficits in skeletal muscle markers of mitochondrial biogenesis in adulthood
Laker, 2011 ⁶⁶	Male	9-24 weeks	Wistar-Kyoto rats	Exercise training on a motorized treadmill	Exercise prevents compromised pancreatic β -cell mass later in life
Leandro, 2012 ⁷¹	Male	60 days	Wistar rats	Exercise training on a motorized treadmill	Physical activity reverts the effects of a perinatal low-protein diet on the proportion of fiber types in skeletal muscle
Maux, 2009	Male	16	Wistar	Exercise training	Physical activity did not modify

⁷⁴		weeks	rats	on a motorized treadmill	structural alterations on the common left carotid and horizontal aorta arteries wall
Miles, 2009 ⁶⁴	Male and Female	250-365 days	Wistar rats	Running over level pressing for food	IUGR rats have greater preference for running over lever pressing for food
Miles, 2009 ⁶⁷	Male and Female	150 days	Wistar rats	Forced exercise in running wheels	Exercise prevents obesity in IUGR offspring.
Oliveira, 2014 ⁷²	Male	8-18 weeks	Wistar rats	Exercise training on a motorized treadmill	Aerobic exercise promotes beneficial cardiovascular adaptations in IUGR
Reyes, 2015 ⁷³	Male and Female	10-16 weeks	Sprague-Dawley rats	Exercise training on a motorized treadmill	Aerobic exercise improved vasodilation in muscle arteries in IUGR males
Vickers, 2003 ⁽²⁴⁾	Male and Female	420 days	Wistar rats	Optimax behavioral testing apparatus	IUGR offspring were significantly less active than controls. Postnatal hypercaloric diet exacerbated the sedentary behavior.

Table 4: Proposed mechanisms implied in the association between IUGR and lower physical activity levels

Mechanism	Author / Year	Main findings
Altered cardiovascular/ aerobic performance	Baraldi, 1990 ⁹³	Higher energy cost of running in SGA
	Boreham, 2001 ⁹²	Higher birth weight, higher fitness score
	Cafiero, 2014 ⁹⁰	Decreased cardiovascular fitness in SGA
	Lawlor, 2008 ⁹¹	Birth weight, length and ponderal index positively associated with cardiorespiratory fitness
	Reyes, 2015 ⁹⁴	Reduced baseline cardiac performance in male IUGR offspring and increased superoxide generation
Altered muscle strength	Brutsaert, 2011 ⁽⁴¹⁾	Low ponderal index at birth associated with lower grip strength, lower maximal isometric voluntary contraction, increased rate of fatigue and decreased training response
	Dodds, 2012 ⁽⁴²⁾	Birth weight positively associated with greater muscle strength
	Inskip, 2007 ⁷⁸	Increased grip strength with higher birth weight
	Kuh, 2002 ⁸⁰	Birth weight associated with adult grip strength
	Moura-dos-Santos, 2013 ⁷⁷	Decreased handgrip strength and running speed performance in LBW
	Ridgway, 2009 ⁷⁹	Birth weight positively associated with muscle strength and aerobic fitness
	Ylihärtilä, 2007 ⁸¹	Birth weight associated with grip strength and increased adult lean mass
	Van Deutekom, 2015 ⁷⁶	Birth weight positively associated with handgrip strength. Impaired aerobic and neuromuscular fitness in LBW
Muscle metabolism, gene expression and histologic alterations	Brons, 2008 ⁸⁴	Normal in vivo mitochondrial function and expression of oxidative phosphorylation genes in low birth weight.
	Brutsaert, 2012 ⁽⁸⁵⁾⁵	Plasma lactate after exercise as well as in response to training (but not aerobic capacity are dependent on ponderal index.
	Friedrichsen, 2012 ⁽⁸⁶⁾⁶	CD68 expression increased in low birth weight, oxidative phosphorylation genes decreased in low birth weight and negatively correlated with CD69 expression. MPC1 and NF-κB activity unaffected. None of the inflammatory markers correlated with insulin sensitivity.
	Jensen, 2007 ⁸³	Changes in muscle fiber composition and size
	Mortensen, 2013 ⁸⁷	More sensitive AMPK system
	Mortensen, 2014 ⁸⁸	Bed rest is related to decreased insulin-stimulated Akt phosphorylation and to increased AMPK α1 and γ3 protein expression; insulin response of A5160 phosphorylation is decreased both pre- and post- bed rest.

Figure 1: Fetal programming alters gene expression, cardiometabolic status, muscle strength, metabolism and histology, leading to altered physical activity levels in individuals with IUGR. Age, culture, exposure, sleep quality, socioeconomic status, neighborhood safety, screen time and indoor activities also moderate the association between birth weight and sedentary behavior.

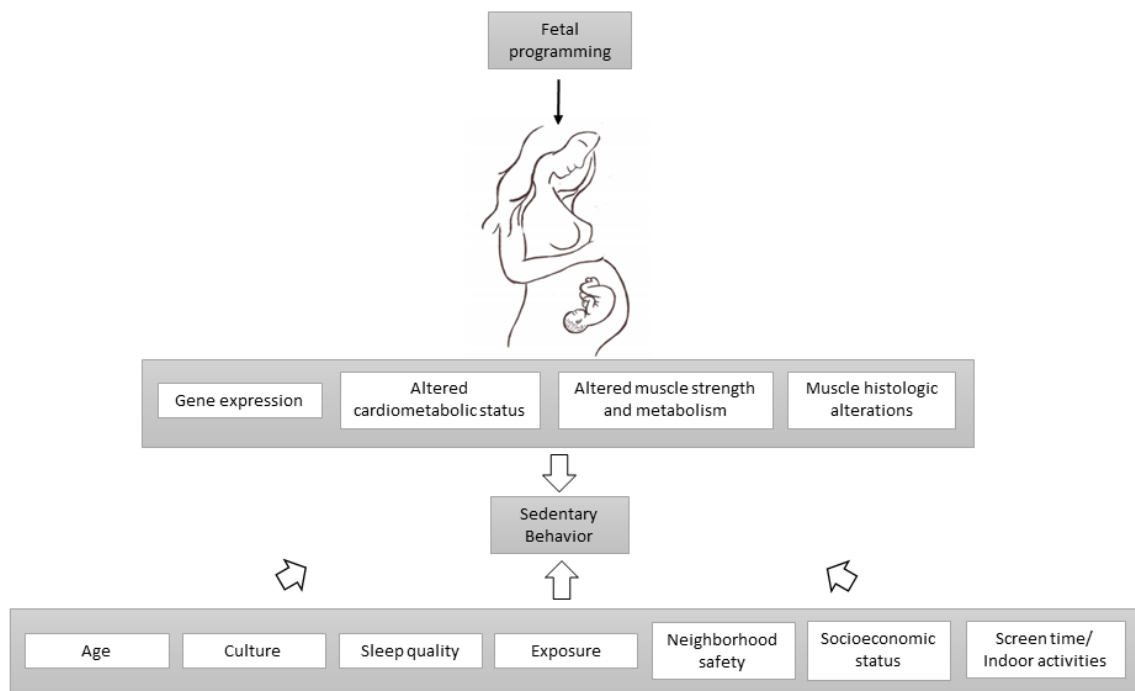
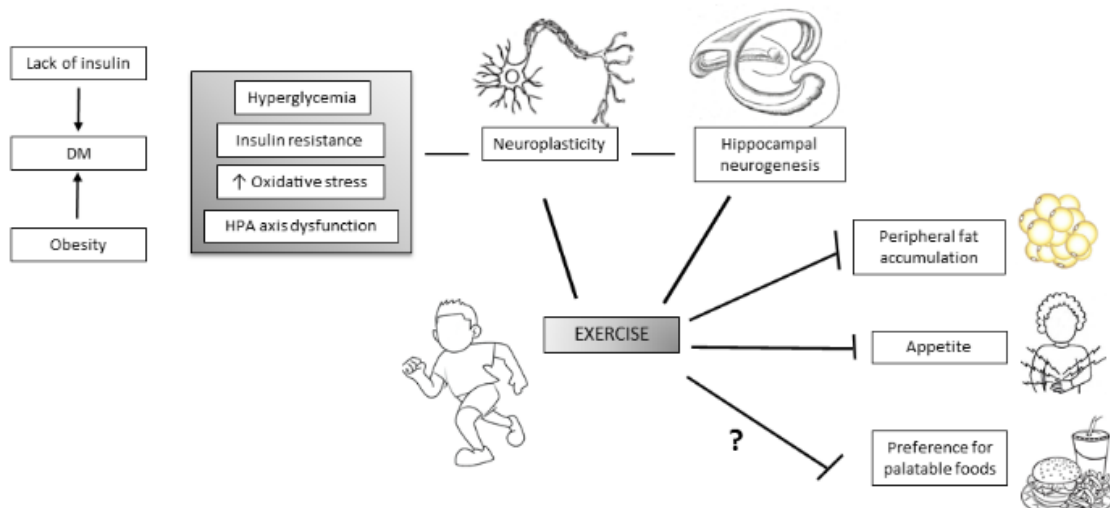


Figure 2: Exercise may act in specific vulnerabilities that IUGR individuals have, such as their increased risk for type II diabetes and adiposity, as well as hypothalamus-pituitary-axis (HPA) dysfunction. Moreover, exercise acts in several brain areas and processes, such as increasing neurogenesis and neuroplasticity and therefore influences behavior. Adapted and modified from Yi SS. Effects of exercise on brain functions in diabetic animal models. World J Diabetes. 2015;6(4):583-97.



3. JUSTIFICATIVA

A prevalência relativamente alta de RCIU na população em geral (10-15%), assim como das doenças crônicas não transmissíveis às quais estes indivíduos estão mais propensos, torna importante a investigação de fatores determinantes de saúde nesses indivíduos. Ainda neste sentido, estudos mostram que a RCIU está associada a maior preferência por alimentos ricos em açúcar e/ou gordura, confirmando a importância dessa investigação. O desenvolvimento do hábito da atividade física e seu possível papel na modulação de outros comportamentos (como o consumo alimentar) podem ser relevantes especificamente nesta população vulnerável.

A escolha de trabalhar com um modelo animal torna possível investigar mecanismos que expliquem as alterações comportamentais por meio da coleta e análise de tecidos. Além disso, o período de gestação e o ciclo vital dos ratos são curtos, permitindo que experimentos avaliando o efeito de intervenções pré-natais na vida adulta possam ocorrer num curto período de tempo.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo geral

O objetivo deste trabalho foi avaliar se a exposição ao exercício físico voluntário durante o desenvolvimento, em um modelo animal de RCIU, afeta o comportamento alimentar, o metabolismo e a preferência por atividade física na vida adulta. Além disso, foram explorados possíveis mecanismos que expliquem as alterações de comportamento com foco no sistema dopaminérgico mesolímbico e nigroestriatal em ratos.

4.2. Objetivos específicos

- Avaliar o nível de exercício físico voluntário da prole com e sem RCIU durante o desenvolvimento nos dias 35, 49 e 63 de vida, em rodas de corrida.
- Avaliar se a exposição ao exercício físico voluntário na roda de corrida durante o desenvolvimento altera o consumo alimentar de dieta palatável (rica em açúcar e gordura).
- Avaliar se a exposição ao exercício físico voluntário na roda de corrida durante o desenvolvimento influencia o condicionamento de lugar tendo como recompensa a roda de corrida.
- Avaliar se a exposição ao exercício físico voluntário na roda de corrida durante o desenvolvimento influencia no peso corporal dos animais com 90 dias de vida aproximadamente.
- Avaliar se a exposição ao exercício físico voluntário na roda de corrida durante o desenvolvimento altera marcadores bioquímicos (glicose, insulina e HOMA-IR).
- Quantificar e comparar os níveis dos receptores dopaminérgicos do tipo D2 no estriado e núcleo accumbens.

5. METODOLOGIA DO ESTUDO EXPERIMENTAL

5.1. Animais

Dezoito (18) filhotes fêmeas e dez (10) filhotes machos *Sprague Dawley* foram selecionados ao acaso, aos 21 dias de vida, sendo provenientes da Unidade Experimental Animal (UEA) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). Eles permaneceram até os 60 dias de vida, em caixas-moradia, confeccionadas em Plexiglas, medindo 65cm x 25cm x

15cm, com assoalho recoberto de maravalha e foram mantidos em um ambiente controlado: ciclo normal claro/escuro de 12 horas, temperatura de $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ com limpeza das caixas semanalmente e ração padrão de laboratório e água *ad libitum*.

O início dos acasalamentos aconteceu após todos os animais completarem 75 dias de vida. Previamente ao acasalamento, foi verificado o ciclo estral de cada rata, por meio de visualização em microscopia do material vaginal coletado. Quando observado que a rata estava no período fértil, ela foi colocada junto com um macho, durante o ciclo escuro, para permitir o acasalamento. O acasalamento aconteceu em pequenas levas, devido à necessidade de combinação do ciclo estral das ratas para realização da adoção cruzada (*cross-fostering*) em até 24 horas após o nascimento dos filhotes. A confirmação do acasalamento, por meio da visualização de espermatozóides no material vaginal, foi considerada o dia 1 (um) de gestação. Após confirmação de todos os acasalamentos, os machos foram eutanasiados por sobredose anestésica com isoflurano (4-5% em 500mL O₂) até promoção de parada cardiorrespiratória. O óbito foi confirmado por médico veterinário.

As ratas prenhes foram randomizadas pelo peso corporal, mantidas individualmente e no dia 10 de gestação, divididas nos seguintes grupos:

- Grupo *Ad Libitum* (AdLib) (n=12) – genitoras recebendo ração padrão de laboratório à vontade durante a gestação;
- Grupo Restrição 50% (GR50%) (n=6) - genitoras recebendo 50% do consumo médio de ração padrão de laboratório (determinado pela quantificação do consumo médio diário de ratas do grupo controle a cada dia da gestação) (ALVES *et al.*; CUNHA *et al.* 2015; DALLE MOLLE *et al.* 2015a; LAUREANO *et al.* 2016).

Durante a gestação, foi aferido o consumo de ração e o peso corporal diariamente. Vinte e quatro horas após o nascimento, os filhotes foram pesados e padronizados em oito por ninhada para a realização do procedimento de adoção cruzada (*cross-fostering*) no qual as ninhadas passam da mãe gestante para a mãe adotiva, formando os seguintes grupos (gestação/lactação):

- AdLib/AdLib – filhotes de mães que receberam ração padrão de laboratório à vontade (AdLib) foram adotados por outras mães AdLib. Esse grupo será denominado **grupo controle** ao longo do trabalho.
- GR50%/AdLib – filhotes de mães desnutridas foram adotados por mães AdLib. Esse grupo será denominado **grupo RCIU** ao longo do trabalho.

Esse procedimento de adoção cruzada é realizado para que os filhotes das genitoras que receberam a dieta com restrição de 50% sejam amamentados por uma genitora com condições nutricionais normais, fazendo com que o efeito da restrição alimentar fique isolado ao período intrauterino.

Nesse estudo, somente os filhotes machos foram utilizados. Os filhotes excedentes e as fêmeas foram destinados a outro projeto do grupo de pesquisa aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação do HCPA (GPPG/HCPA)

Após o desmame as genitoras foram eutanasiadas por sobredose anestésica com isoflurano (4-5% em 500mL O₂) até promoção de parada cardiorrespiratória. O óbito foi confirmado por médico veterinário. O desmame ocorreu no dia 21 de vida dos filhotes, sendo que estes foram randomizados por peso, ficando três machos por caixa, e expostos ao exercício ou não conforme os seguintes grupos:

- a) Roda trancada (**RT**): mantidos em caixas-moradia com a roda de corrida trancada do dia 21 ao dia 63 de vida;
- b) Roda livre (**RL**): mantidos em caixas-moradia com a roda de corrida livre do dia 21 ao dia 63 de vida, para que pudessem se exercitar.
- c) Sem roda (**SR**): animais que não fizeram exercícios e não tiveram a roda de corrida disponível.

O grupo RT foi incluído nos experimentos com a intenção de descartar possíveis efeitos do enriquecimento ambiental proporcionado pela presença da roda de corrida na caixa moradia e, assim, identificar somente os efeitos do exercício físico voluntário.

Durante todo o período de desenvolvimento, os animais viveram em trios nas caixas moradia, podendo, por meio do contato social, amenizar os efeitos do estresse (GUST *et al.* 1994), diminuir os comportamentos anormais (REINHARDT *et al.* 1989), aumentar as chances de realizar exercícios (WHARY *et al.* 1993), bem como aumentar o comportamento típico da espécie e a estimulação cognitiva.

Os dados do grupo SR são controles históricos (DALLE MOLLE *et al.*, 2015a; CUNHA *et al.* 2015) e foram utilizados como controles totais, visto que estes animais não fizeram exercício e não tiveram a roda de corrida disponível, mas seguiram o mesmo protocolo experimental neonatal e também de testes comportamentais.

No total, foram utilizadas 16 caixas com rodas de corrida, sendo oito com rodas trancadas e oito com rodas livres para o exercício físico voluntário, cada uma com 3 ratos machos que compartilhavam a mesma roda. A figura 3 mostra um esquema da formação dos grupos e do número de animais por caixa e os testes realizados.

Após os testes comportamentais, os animais foram eutanasiados por decapitação com aproximadamente 90 dias de vida. Este método foi utilizado, pois o uso do anestésico interfere na sinalização neuroquímico-fisiológica de hormônios e neurotransmissores que foram investigados neste projeto de pesquisa (GUARINO *et al.*, 2013; SAHA *et al.*, 2005).

Figura 3: Esquema dos grupos neonatais conforme exposição ou não ao exercício físico e participação nos testes comportamentais, bioquímicos e neuroquímicos

			TESTES				
			Ex.F n=4/g	CPP n=6-8/g	BioD n=9/g	An.B n=8/g	An.N n=5-7/g
Grupo RCIU	24 Machos	12 - RL (3/caixa)	X	X	X	X	X
		12 - RT (3/caixa)	X	X	X	X	X
Grupo controle	24 Machos	12 - RL (3/caixa)	X	X	X	X	X
		12 - RT (3/caixa)	X	X	X	X	X
Controles históricos	12 Machos	Sem rodas de corrida			X	X	X
RCIU históricos	12 Machos	Sem rodas de corrida			X	X	X

Ex.F= Exercício Físico; **CPP**= Preferência Condicionada por Lugar; **BioD**= BioDAQ®; **An.B**= Análises Bioquímicas; **An.N**= Análises Neuroquímicas; g= grupo.

5.2. Exercício físico voluntário durante o desenvolvimento

Medidas do exercício físico voluntário com duração de 24 horas foram realizadas nos dias 35, 49 e 63 de vida dos filhotes, ou seja, o cabo de transmissão foi ligado à roda de corrida e conectado ao contador digital por um período de 24 horas nestes dias específicos. Tanto os animais do grupo RL quanto os animais do grupo RT participaram dessa avaliação.

No caso do grupo RT, as rodas foram liberadas durante as 24h em que foi realizada a medição. Foram realizadas, ao todo, três contagens de 24 horas durante o período de desenvolvimento dos animais. Utilizamos três animais por caixa e foram analisados o número total de voltas por caixa, referentes aos grupos RCIU e controle, expostos ao exercício, com roda trancada ou livre. Esta medida foi feita em quatro caixas de cada grupo, o suficiente para controle de um dado secundário, que não representa o desfecho final, mas um marcador para quantificar o exercício físico voluntário ao longo do desenvolvimento.

Figura 4: Caixas moradias com rodas de corrida e contadores digitais



Fonte: Autor

5.3. Teste de preferência condicionada por lugar (*Conditioned Place Preference – CPP*) induzida pela roda de corrida

Do dia 64 até o dia 72 de vida, oito animais por grupo, realizaram o teste de preferência condicionada por lugar (*Conditioned Place Preference – CPP*). O aparato possui dois compartimentos com 35cm x 50 cm, com uma ligação removível entre eles de 10 cm. Os dois compartimentos são diferenciados pelas paredes brancas *versus* pretas, pela textura do piso e pela presença de uma lâmpada acesa no compartimento branco.

No primeiro dia, os ratos foram colocados no aparato por 15 minutos, com livre acesso aos dois compartimentos para avaliar a preferência natural por cada lado. O tempo de permanência em cada lado foi registrado. No primeiro dia, todos os ratos preferiram o lado escuro, permanecendo a maior parte do tempo nele (DALLE MOLLE *et al*, 2015). Do segundo ao sétimo dia, considerados os dias de treino, a roda de corrida foi colocada no lado claro como recompensa. Em cada dia do treino, os ratos foram colocados em um dos lados do aparato e a duração de cada treino foi de 30 minutos por dia. No compartimento não preferido (lado claro), os ratos puderam se exercitar livremente, enquanto no outro compartimento não receberam tratamento.

No oitavo dia (dia do teste), os ratos foram colocados individualmente no aparato com livre acesso aos dois compartimentos por um período de 15 minutos, sem roda disponível. O tempo de permanência no lado claro, relacionado à roda de corrida durante o treino, foi registrado. A diferença entre os tempos de permanência no compartimento relacionado à roda no oitavo e no primeiro dia ($\text{delta} = \text{tempo no lado claro no } 8^{\circ} \text{ dia} - \text{tempo no lado claro do } 1^{\circ} \text{ dia}$) é um indicativo da preferência condicionada por lugar.

Figura 5: Aparato utilizado para o teste de preferência condicionada por lugar

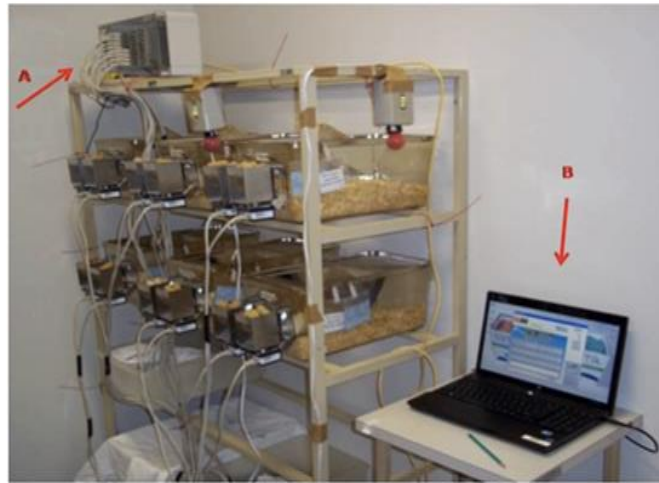


Fonte: Autor

5.4. Consumo alimentar

Para a mensuração do consumo alimentar na vida adulta, foi utilizado um medidor automatizado de consumo periódico que fornece não somente os totais de consumo, mas também sua distribuição qualitativa durante as 24 horas do dia. Participaram desta avaliação nove animais por grupo, com aproximadamente 72 a 76 dias de vida. Esse sistema, denominado BioDAQ® (*Research Diets*), fornece o número e a distribuição das porções (*bouts*) e das refeições (*meals*), (acurácia de 0,01grama) bem como o total consumido nos diferentes períodos do dia. Para avaliar o consumo alimentar, os animais tiveram a possibilidade de escolha entre a ração padrão (Calorias: 3,06 kcal/g; Ingredientes em 1Kg de ração: 45,5% carboidratos (sem sacarose adicionada), 7% fibra bruta, 22% proteínas, 4% gorduras, 9% matéria mineral, 12,5% umidade, - NUVILAB®) e uma ração palatável rica em gordura e açúcar (Calorias: 4,82 kcal/g; Ingredientes em 1Kg de ração: 30% carboidratos (sendo 20% sacarose), 6% fibra bruta, 14% proteínas, 34% gorduras, 8% matéria mineral, 8% umidade – Prag Soluções Biociências®, Jaú-SP, Brasil). Os animais permaneceram no aparato por um período total de quatro dias. Para evitar neofobia e estresse de isolamento, os animais foram habituados ao isolamento e ao alimento palatável (ração rica em gordura) nos dois primeiros dias. Portanto, nas análises foram utilizados somente os dados de consumo dos dois últimos dias no aparato, e considerou-se apenas o consumo de ração palatável, já que o consumo de ração padrão foi baixo em todos os grupos.

Figura 6: Sistema computadorizado BioDAQ®, (A) a central de dados e (B) o computador periférico



Fonte: Autor

5.5. Dissecção das estruturas e armazenamento das amostras

Após os testes comportamentais, os animais foram eutanasiados por decapitação, com aproximadamente 90 dias de vida, para coleta de sangue e encéfalo. Todos os animais permaneceram por quatro horas em jejum antes de serem eutanasiados. O sangue foi coletado em tubos de coleta específicos para extração de soro. Após a coleta, os tubos com sangue foram deixados em decantação em temperatura ambiente por, no mínimo 30 minutos e, no máximo, 120 minutos. Ao completar esse tempo, as amostras foram centrifugadas por 10 minutos a 4000 RCF a 4°C. O sobrenadante foi distribuído em microtubos, e acondicionado no gelo seco até serem levados ao freezer -80°C, onde permaneceram até o dia das análises bioquímicas. Os encéfalos foram rapidamente removidos e congelados por imersão no isopentano e armazenados a -80°C até as análises. Para dissecção das estruturas de interesse, os cérebros foram descongelados até -20°C e, com o auxílio de um atlas da estrutura cerebral do rato (PAXINOS e WATSON, 2007), foram realizados cortes coronais do encéfalo e retirados *punches* do núcleo accumbens e do estriado de aproximadamente 1mm de diâmetro.

Essas amostras foram armazenadas a -80 °C e utilizadas para a quantificação proteica por *Western Blot*.

5.6. Western Blot

As amostras do núcleo accumbens e estriado foram homogeneizadas em tampão de lise, adicionado de 1% de inibidores de protease (*Complete*, Roche) e fosfatase (*Phostop*, Roche). As amostras destinadas à quantificação de receptores D2 foram centrifugadas a 3000 rpm durante 10 minutos a 4°C para a extração da porção citosólica e, depois, passaram por uma centrifugação adicional a 13000 rpm durante 30 minutos a 4°C para obter uma extração citosólica purificada. Parte do sobrenadante (2 µl) foi utilizada para quantificar a proteína total, utilizando-se um *kit* BCA com albumina bovina como padrão (*Pierce BCA Protein*, *Thermo Scientific*). Quantidade suficiente do sobrenadante que continha 30 µg de proteína (quantificação de receptores D2 no núcleo accumbens) ou 35 µg (quantificação de receptores de D2 no estriado) foi incubada com LDS + DTT a 99°C por 3 minutos. Essas amostras e um padrão de peso molecular (*Rainbow Marker*, *GE Healthcare*) foram submetidos à eletroforese em gel de poliacrilamida (NUPAGE 4-12% bis-tris gel, *Invitrogen*) e, em seguida, transferidos para membranas de nitrocelulose (*Hybond-C*, *GE Healthcare*). As membranas foram bloqueadas em leite desnatado 5% diluído em tampão *Tris-Base* com 1% de Tween-20. Em seguida, as membranas foram incubadas *overnight* com o anticorpo primário. No dia seguinte, foram incubadas por 1h e 30 minutos com o anticorpo secundário (*anti-rabbit* 1:2000 ou *anti-mouse* 1:2000, *Cell Signaling*), após exposição ao ECL (*GE Healthcare*) a quimioluminescência foi revelada usando fotodocumentador ImageQuant® LAS 500 (*GE Healthcare*). Os seguintes anticorpos primários foram utilizados: D2 1:1000 (*anti-dopamine D2 receptor*, *Millipore*, num: AB5084P); para comparar os resultados das proteínas de interesse com uma proteína padrão, as membranas foram incubadas *overnight* com o

anticorpo primário para β -actina 1:1000 (Sigma-Aldrich) e no dia seguinte com o respectivo secundário (*anti-mouse* 1:2000, *Cell Signaling*). A intensidade das bandas foi calculada com auxílio do programa ImageJ® (*Research Services Branch, National Institute of Mental Health, Bethesda, Maryland, USA*), disponível gratuitamente *on line*. Os resultados foram expressos como a razão entre as proteínas de interesse e a β -actina. As comparações foram realizadas somente entre amostras da mesma membrana (máximo 15 amostras por membrana), por isso os resultados estão separados por exposição ao exercício.

5.7. Gordura Abdominal

As duas maiores porções de gordura abdominal (gonadal e retroperitoneal) foram dissecadas e pesadas usando uma balança da marca Marte® com precisão de 0,01g. Os resultados da quantidade de gordura abdominal foram calculados como percentual do peso corporal.

5.8. Análises bioquímicas

Os níveis séricos de glicose foram determinados utilizando método Glicose Hexoquinase, e a insulina foi determinado pelo método de ELISA, utilizando *Rat / Mouse Insulin ELISA kit* e seguindo as instruções do fornecedor. O Índice Homa foi calculado a partir da fórmula $HOMA-IR = (FPG \times FPI)/2,430$, (CACHO *et al.*, 2008) onde *FPG* = *fasting plasma glucose (mg/dl)* e *FPI* = *fasting plasma insulin (mU/ml)*.

5.9. Considerações éticas

O projeto de pesquisa número 14.0289 foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (GPPG/HCPA). Todos os procedimentos envolvendo animais foram realizados de

acordo com o *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (NIH)* e as recomendações de acordo com as considerações estabelecidas pela Sociedade Brasileira da Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL/COBEA) e pela Lei Arouca (Lei nº 11.794 de 8 de outubro de 2008). Foi utilizado o número mínimo de animais para a realização do projeto bem como as técnicas mais adequadas para evitar o sofrimento dos animais.

5.10. Análises Estatísticas

Os dados foram digitados e analisados no programa *Statistical Package for the Social Sciences (SPSS)* versão 18.0 (SPSS Inc., IBM Company, Chicago, EUA) e, quando paramétricos, descritos como média \pm erro padrão da média (EP). No caso de dados não paramétricos, estes foram apresentados em mediana e amplitude interquartil. A normalidade dos dados foi testada por meio do teste de *Shapiro-Wilk*.

Para avaliação do exercício físico voluntário durante 24h nas três fases da vida (35, 49 e 63 dias de vida), foi calculada a média do número de voltas discriminada por ciclo (claro e escuro). Os resultados das médias de voltas foram transformados em um escore de exercício físico por meio da divisão das médias em quintis, formando 5 faixas discriminadas por ciclo (sendo 1 o valor que corresponde a pouco exercício, e 5 o valor que corresponde a muito exercício). A comparação entre os escores de exercício físico foi realizada por Equações de Estimativa Generalizadas (GEE), utilizando como fatores o grupo neonatal, o grupo de exposição ao exercício e a fase da vida.

Todas as análises dos outros desfechos foram realizadas separadas por exposição ao exercício (RT, RL ou SR) com o objetivo de comparar os grupos neonatais (controle e RCIU) dentro de uma mesma exposição ao longo do desenvolvimento. Os dados paramétricos foram comparados por meio dos testes ANOVA de uma via ou *t de Student*. Em algumas análises realizadas por ANOVA de uma via o peso corporal foi utilizado como co-variável (consumo

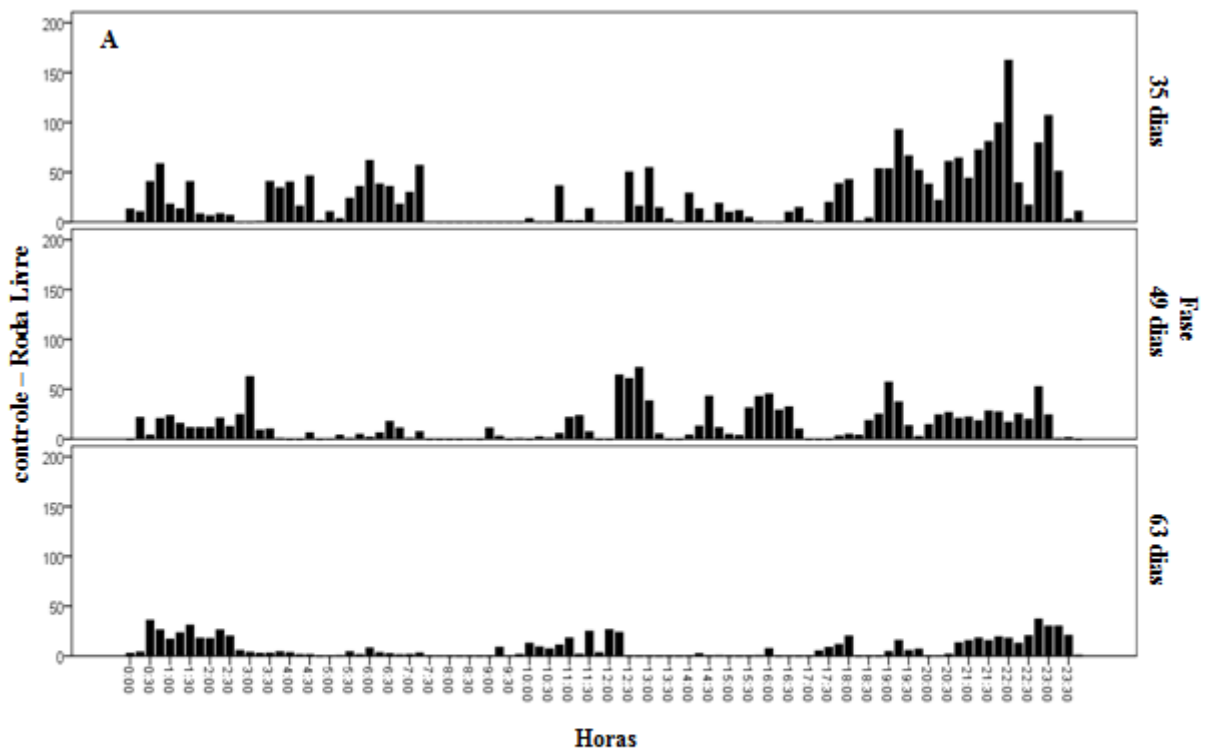
alimentar e análises bioquímicas). Os dados não paramétricos foram analisados por *Mann-Whitney*.

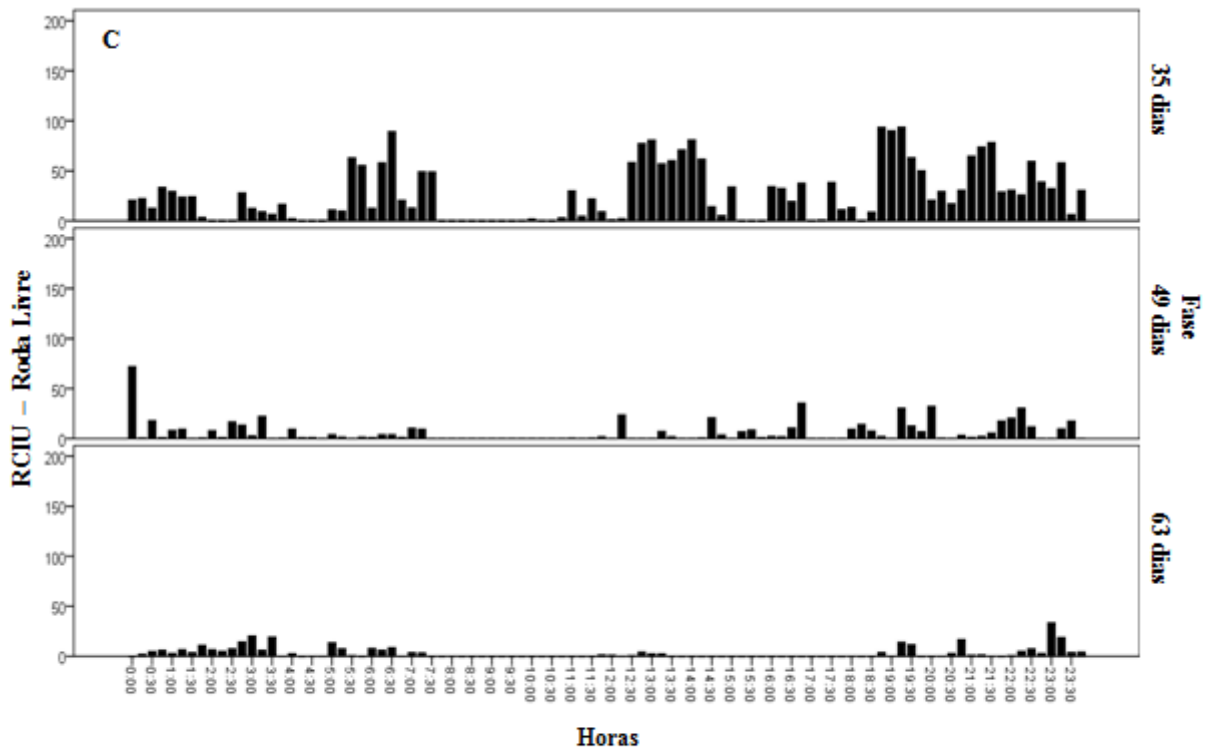
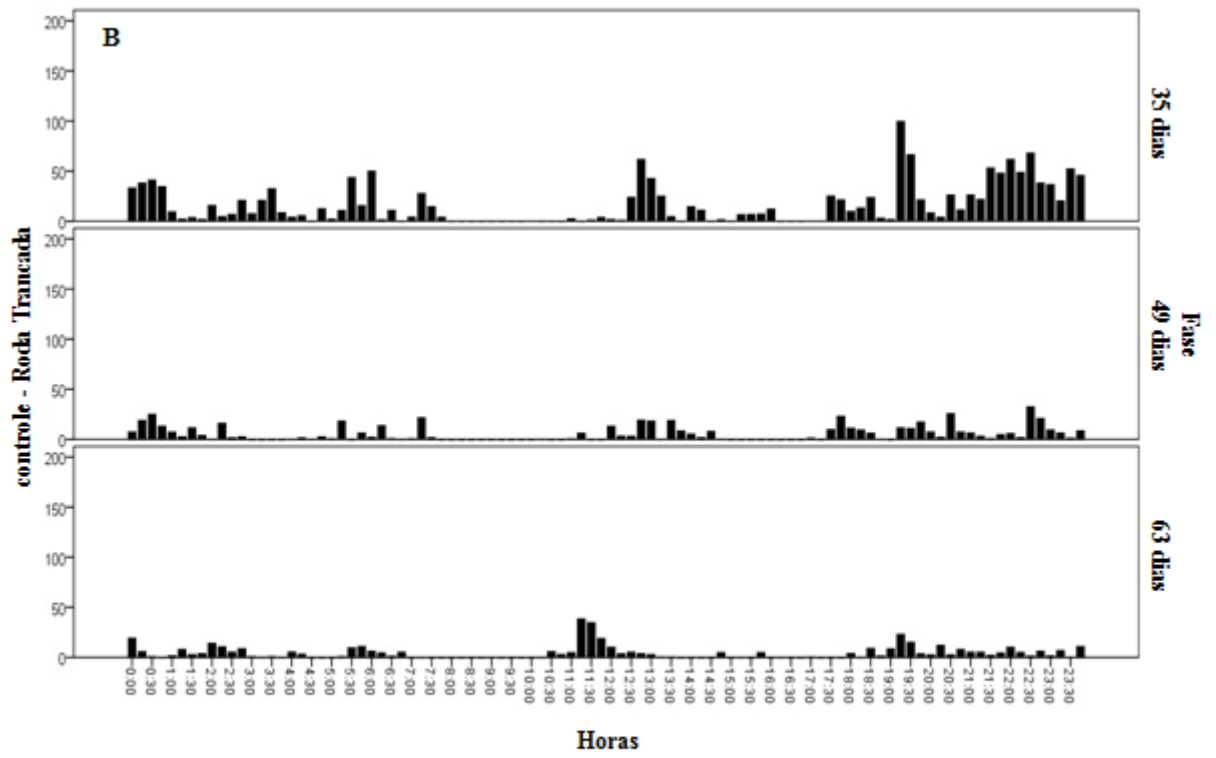
6. RESULTADOS DO ESTUDO EXPERIMENTAL

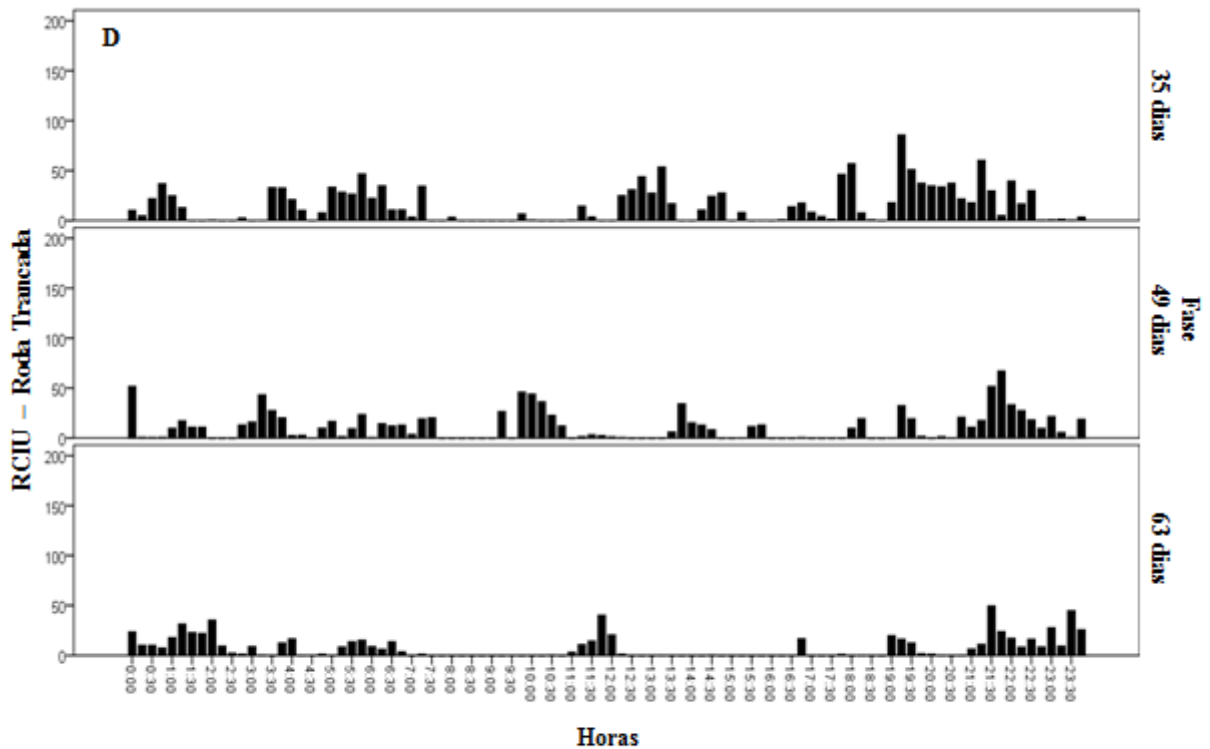
6.1. Exercício Físico Voluntário

Não foi encontrada diferença entre os grupos RCIU e controle com relação à quantidade de exercício físico realizado, independentemente do tipo de exposição ao exercício. Na figura 7 é possível observar o padrão do número de voltas de cada grupo, controle_RL, controle_RT, RCIU_RL, RCIU_RT, respectivamente, durante as 24 horas que foram realizados os testes de exercício físico voluntário, aos 35, 49 e 63 dias de vida.

Figura 7 – Número de voltas dos grupos (A) controle_RL (n=4), (B) controle_RT (n=4), (C) RCIU_RL (n=4), (D) RCIU_RT (n=4) durante as 24h de avaliação do exercício físico voluntário







As análises dos escores de exercício físico realizadas por Equações de Estimação Generalizadas (GEE) mostraram que no ciclo escuro a interação tripla (grupo neonatal*Exercício*Fase da vida) não foi significativa (Wald= 1,895; gl= 2; p=0,388). No entanto, a interação entre o exercício e a fase da vida foi significativa (Wald= 6,666; gl=2; p=0,036), mostrando que na fase de vida 1 (ratos com 35 dias) a média do escore dos animais RL foi maior do que a média do escore dos animais RT. O efeito isolado da variável fase da vida, (Wald= 27,133; gl=2; p<0,001) mostrou que a média dos escores na fase 1 (35 dias de vida) foi maior do que a média dos escores nas fases 2 e 3 (ratos com 49 e 63 dias respectivamente) (Tabela 5).

Tabela 5: Comparação das médias dos escores do número de voltas da interação entre exercício e fase da vida no ciclo escuro

Exercício	Fase da vida	Média	EP
RL	1 (35 dias)	4,50	0,177
	2 (49 dias)	2,75	0,342
	3 (63 dias)	2,42	0,463
RT	1 (35 dias)	3,13	0,512
	2 (49 dias)	2,63	0,446
	3 (63 dias)	2,25	0,415

A mesma análise foi realizada para o ciclo claro (Tabela 6), mas apenas o efeito principal da variável fase da vida foi significativo (Wald= 42,232; gl= 2; p<0,001). A média dos escores foi maior na fase de vida 1 (ratos com 35 dias) em relação às demais fases, e a média dos escores na fase de vida 2 (ratos com 49 dias) foi maior que a média na fase de vida 3 (ratos com 63 dias).

Tabela 6: Comparação das médias dos escores do número de voltas nas três fases da vida no ciclo claro.

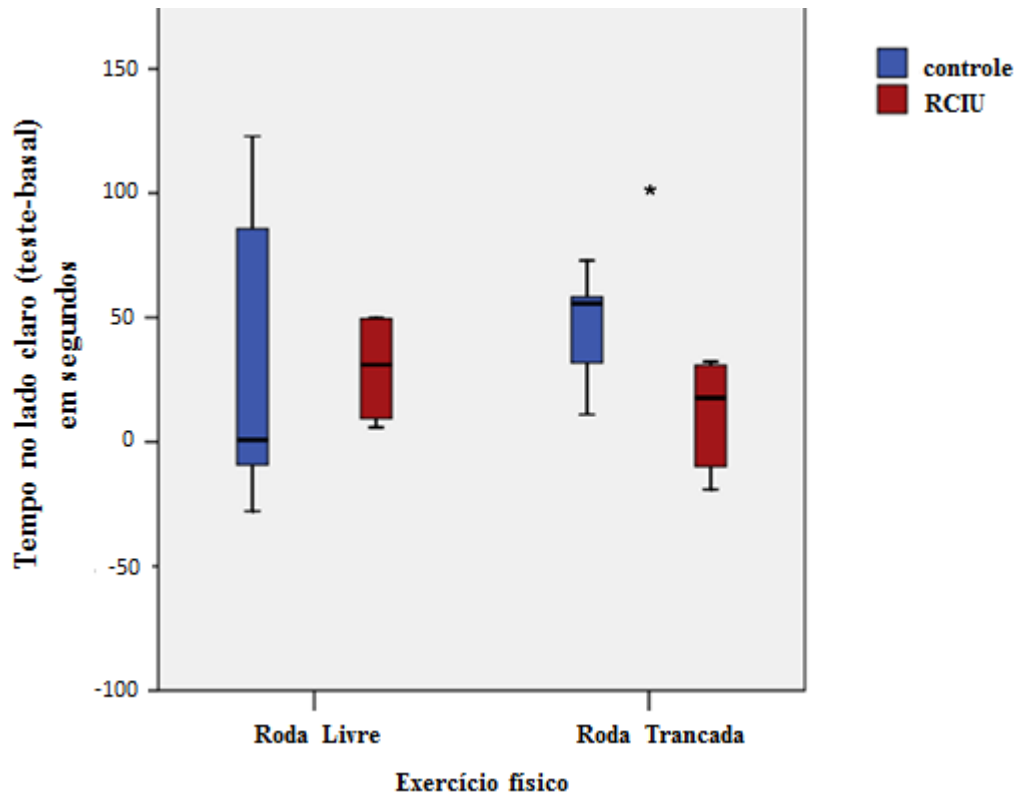
Fases da vida	Média	EP
1 (35 dias)	3,81	0,288
2 (49 dias)	3,00	0,316
3 (63 dias)	1,98	0,242

6.2. Teste de preferência condicionada por lugar induzida pela roda de corrida

Ao analisar o delta (tempo no lado claro no 8º dia - tempo no lado claro do 1º dia), separando por exposição ao exercício, observou-se que os animais RCIU condicionaram menos ao lado claro, apresentando um delta menor que os animais controle [*Mann-Whitney*

$z = -2,242$, $p = 0,025$], quando expostos a RT. Já nos animais RL não houve diferença no condicionamento entre RCIU e controle [*Mann-Whitney* $z = -0,480$, $p = 0,631$] (Figura 8).

**Figura 8: Delta do teste de preferência condicionada por lugar (CPP) (n= 6/grupo).
Teste de *Mann-Whitney* (* $p = 0,025$)**



6.3. Peso corporal antes do BioDAQ®

Ao analisar o peso dos animais antes de realizar os testes de consumo no aparato BioDAQ® não se observou diferenças entre os grupos controle e RCIU nas diferentes exposições ao exercício [RL: controle = $379,953g \pm 9,848$; RCIU = $363,836g \pm 9,848$; $F(1,16) = 1,339$; $p = 0,264$ / RT: controle = $416,251g \pm 13,324$; RCIU = $418,413g \pm 15,385$; $F(1,19) = 0,011$; $p = 0,916$ / SR: controle = $480,785g \pm 13,622g$; RCIU = $449,501g \pm 13,622g$; $F(1,14) = 2,638$; $p = 0,127$].

6.4. Comportamento alimentar

O consumo total da dieta palatável durante as 48 horas de teste de consumo no aparato BioDAQ® não foi significativamente diferente entre os grupos controle e RCIU nas diferentes exposições ao exercício [RL: controle = 36,196g ± 4,834; RCIU = 39,861g ± 4,834; F(1,15)=0,276, p=0,607 / RT: controle = 23,754g ± 3,801; RCIU = 26,790g ± 4,390; F(1,18)=0,273 p=0,608 / SR: controle = 39,503g ± 3,639; RCIU = 47,552g ± 3,639; F(1,13)=2,253, p=0,157]. Análises mais detalhadas do consumo da dieta palatável foram realizadas dividindo o consumo em ciclo claro e ciclo escuro.

Nos resultados referentes ao ciclo claro (Tabela 7) pode-se observar que nos animais expostos à RT o tamanho médio da porção (g/porção) foi maior no grupo RCIU comparado ao controle.

No ciclo escuro (Tabela 8), observou-se que nos animais SR o consumo total em gramas e o número médio de porções foram maiores no grupo RCIU do que no grupo controle. Nos animais RT, o número médio de porções foi maior no grupo controle do que o RCIU.

Tabela 7 – Caracterização do consumo de ração palatável no ciclo claro

Medidas	RL			RT			SR		
	controle (n=9)	RCIU (n=9)	valor <i>p</i>	controle (n=9)	RCIU (n=9)	valor <i>p</i>	controle (n=9)	RCIU (n=9)	valor <i>p</i>
Consumo total (g em 48h)	17,475 ± 3,965	19,331 ± 3,965	0,750	12,622 ± 2,003	14,665 ± 2,314	0,513	20,210 ± 2,619	17,575 ± 2,619	0,507
Número médio de porções por ciclo	18,576 ± 2,964	19,757 ± 2,964	0,786	21,104 ± 2,675	18,806 ± 3,089	0,581	13,437 ± 3,003	13,501 ± 3,003	0,989
Tamanho médio da porção por ciclo (g/porção)	0,558 ± 0,099	0,541 ± 0,099	0,911	0,337 ± 0,054	0,517 ± 0,062	0,042*	0,756 ± 0,107	0,603 ± 0,107	0,347
Número médio de refeições por ciclo	2,460 ± 0,317	2,651 ± 0,317	0,682	2,831 ± 0,355	3,114 ± 0,410	0,602	2,679 ± 0,260	1,946 ± 0,260	0,078
Tamanho médio da refeição por ciclo (g/refeição)	4,253 ± 0,752	4,194 ± 0,752	0,957	2,505 ± 0,473	3,760 ± 0,546	0,100	3,789 ± 0,796	4,346 ± 0,796	0,644

ANOVA de uma via; valores expressos em média ± EP. Análises ajustadas pelo peso corporal antes do BioDAQ®.

Tabela 8– Caracterização do consumo de ração palatável no ciclo escuro

Medidas	RL			RT			SR		
	controle (n=9)	RCIU (n=9)	valor <i>p</i>	controle (n=9)	RCIU (n=9)	valor <i>p</i>	controle (n=9)	RCIU (n=9)	valor <i>p</i>
Consumo total (g em 48h)	15,931 ± 4,046	19,935 ± 4,046	0,503	12,757 ± 2,457	12,162 ± 2,837	0,876	19,293 ± 3,149	29,977 ± 3,149	0,038*
Número médio de porções por ciclo	16,473 ± 3,304	21,027 ± 3,304	0,354	20,907 ± 1,920	13,957 ± 2,218	0,029*	14,423 ± 1,956	28,514 ± 1,956	0,000*
Tamanho médio da porção por ciclo (g/porção)	0,438 ± 0,084	0,542 ± 0,084	0,402	0,346 ± 0,066	0,443 ± 0,076	0,346	0,594 ± 0,087	0,565 ± 0,087	0,822
Número médio de refeições por ciclo	2,523 ± 0,357	2,366 ± 0,357	0,764	3,012 ± 0,393	2,762 ± 0,453	0,683	3,739 ± 0,353	4,823 ± 0,353	0,058
Tamanho médio da refeição por ciclo (g/refeição)	3,421 ± 0,707	4,090 ± 0,707	0,522	1,984 ± 0,504	2,838 ± 0,582	0,282	2,467 ± 0,430	3,570 ± 0,430	0,105

ANOVA de uma via; valores expressos em média ± EP. Análises ajustadas pelo peso corporal antes do BioDAQ®

6.5. Peso corporal antes da decapitação

Ao analisar o peso dos animais antes da coleta de tecidos, observou-se que os animais controles eram mais pesados que os animais RCIU apenas quando expostos à RL [controle=422,998g ± 7,339g; RCIU=399,580g ± 7,339g; F(1,22)=5,091, p=0,034], não aparecendo essa diferença nos animais expostos à RT [controle=443,570g ± 10,905g; RCIU=438,158g ± 10,905g; F(1,22)=0,123, p=0,729]. No grupo SR, os animais RCIU pesaram mais comparados aos controles [SR: controle=376,703g ± 10,594g; RCIU=411,714g ± 11,237g; F(1,15)=5,139, p=0,039].

6.6. Gordura Abdominal

Ao analisar a gordura abdominal total dos animais, observou-se que os animais RCIU apresentaram maior percentual de gordura do que os animais controles, apenas no grupo SR [controle=1,585 ± 0,150; RCIU=2,102 ± 0,150; F(1,14)=5,893, p=0,029], não aparecendo diferença nos animais expostos à RL [controle=1,814 ± 0,119; RCIU=1,626 ± 0,119; F(1,22)=1,249, p=0,276], nem nos animais expostos à RT [controle=1,986 ± 0,146; RCIU=1,660 ± 0,146; F(1,22)=2,499, p=0,128].

6.7. Análises Bioquímicas

Nas análises dos níveis de glicose, insulina e do índice HOMA-IR (Tabela 9), não foram observadas diferenças significativas nos níveis de glicose entre os grupos controle e RCIU nas diferentes exposições ao exercício: RL [F(1,13)=0,22, p=0,885] RT [F(1,13)=3,660, p=0,078] e SR [F(1,13)=3,003, p=0,107]. No entanto, os animais do grupo RCIU tiveram maiores níveis de insulina do que os animais do grupo controle quando expostos à RL [F(1,09)=5,607, p=0,042]. Não houve diferenças entre controles e RCIU nos grupos RT [F(1,09)=1,498, p=0,252], nem no grupo SR [F(1,08)=4,621, p=0,064]. Nas análises do índice HOMA-IR, o grupo RCIU apresentou resultados maiores, indicando maior resistência à insulina, do que o grupo controle, somente nos animais SR [F(1,08)=5,864, p=0,042]. Não foram encontradas diferenças significativas no HOMA-IR quando os animais foram expostos à RL [F(1,09)=4,221, p=0,070] ou RT [F(1,09)=1,266, p=0,290].

Tabela 9: Dados bioquímicos dos grupos neonatal, expostos ou não ao exercício

	RL			RT			SR		
	controle	RCIU	valor <i>p</i>	controle	RCIU	valor <i>p</i>	controle	RCIU	valor <i>p</i>
Glicose (mg/dL)	125,732 ± 4,288 (n=8)	126,643 ± 4,288 (n=8)	0,885	126,899 ± 2,553 (n=8)	119,976 ± 2,553 (n=8)	0,078	132,971 ± 4,210 (n=8)	144,029± 4,210 (n=8)	0,107
Insulina (uU/mL)	3,207 ± 0,707 (n=6)	5,606 ± 0,707 (n=6)	0,042*	4,733 ± 0,780 (n=6)	3,382 ± 0,780 (n=6)	0,252	0,953 ± 0,287 (n=5)	1,869 ± 0,257 (n=6)	0,064
HOMA- IR	5,008 ± 1,382 (n=6)	9,076 ± 1,382 (n=6)	0,070	7,136 ± 1,162 (n=6)	5,287 ± 1,162 (n=6)	0,290	1,495 ± 0,484 (n=5)	3,237 ± 0,433 (n=6)	0,042*

ANOVA de uma via; valores expressos em média ± EP. Análises ajustadas pelo peso corporal antes do BioDAQ.

6.8. Análises Neuroquímicas

Ao avaliar os níveis de receptores dopaminérgicos D2 no estriado, não foram observadas diferenças entre os grupos neonatais quando os animais foram expostos à RL ($t=0,063$, $p=0,951$), ou RT ($t=0,338$, $p=0,742$) no estriado (Figura 9). No NAc também não foram observadas diferenças entre os grupos neonatais quando expostos à RL ($t=-1,240$, $p=0,250$) ou RT ($t=1,836$, $p=0,104$) (Figura 10).

Figura 9: Níveis de receptores D2 no estriado dos animais (A) RL (controle n=5 e RCIU n=7) e (B) RT (controle n=7 e RCIU n=6). DO: densidade ótica

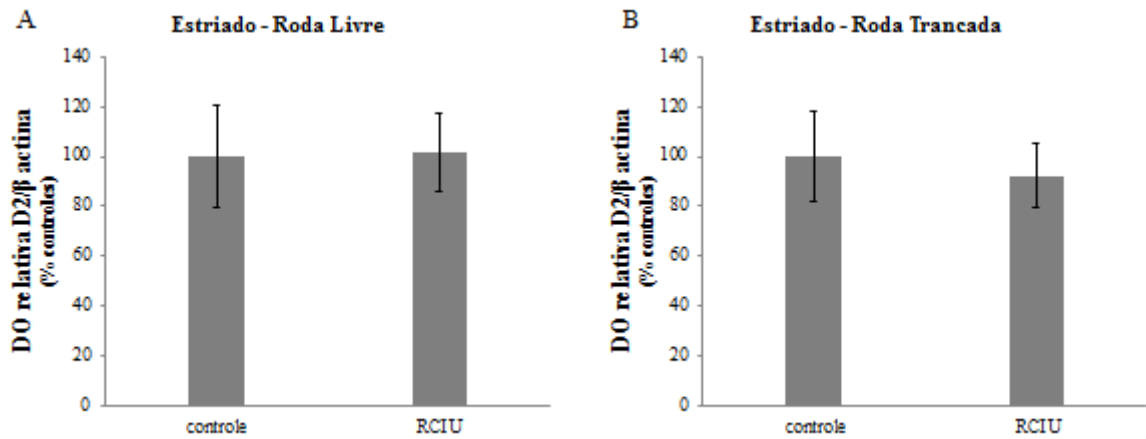
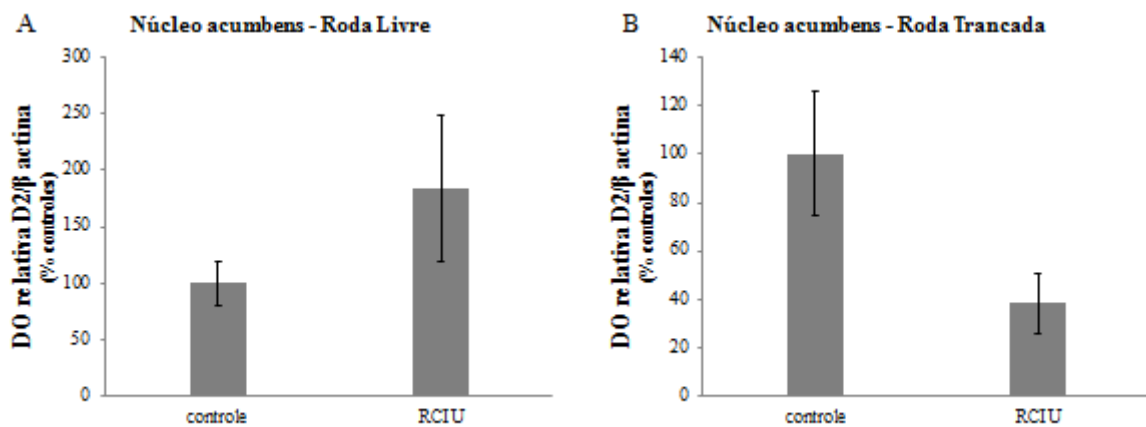


Figura 10: Níveis de receptores D2 no núcleo accumbens dos animais (A) RL (controle n=5 e RCIU n=5) e (B) RT (controle n=6 e RCIU n=4). DO: densidade ótica



7. DISCUSSÃO

Com base nos testes comportamentais, bioquímicos e neuroquímicos foi possível identificar que as diferentes exposições ao exercício (roda livre, roda trancada ou não ter acesso ao exercício) podem alterar o consumo de alimento palatável, o condicionamento de lugar na presença de uma recompensa (nesse caso a roda de corrida), o peso corporal e os níveis de insulina na vida adulta, principalmente no grupo dos animais expostos à restrição de crescimento intrauterino (RCIU), que apresentam maior risco para piores desfechos comportamentais, metabólicos e conseqüentemente maiores chances de desenvolver doenças crônicas. Diferentemente do esperado, não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos neonatais expostos à roda livre ou à roda trancada ao longo do desenvolvimento nos níveis proteicos de receptores D2 no núcleo accumbens e estriado.

O exercício físico voluntário foi avaliado separadamente conforme o período do dia (ciclo claro e ciclo escuro), visto que os roedores são mais ativos no ciclo escuro (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1996). No ciclo escuro, encontrou-se que os animais expostos à RL, independentemente de pertencerem ao grupo RCIU ou controle, apresentaram maiores médias nos escores de voltas na roda de corrida do que os animais expostos à RT aos 35 dias de vida; nas outras idades essa diferença não foi significativa. Neste caso, parece acontecer o princípio da especificidade do treinamento físico, em que, para se obter melhor resultado numa tarefa, o treinamento deverá ser realizado de acordo com as capacidades específicas daquela determinada tarefa (FLECK e KRAEMER, 2007). Ainda no ciclo escuro, observou-se que existe diferença na média dos escores conforme a fase de vida, novamente independente do grupo neonatal, sendo a média dos escores na fase 1 (35 dias de vida) maior do que a média dos escores nas fases 2 e 3 (ratos com 49 e 63 dias respectivamente). Já durante o ciclo claro observou-se apenas diferença conforme a fase da vida: os animais com

35 dias de vida apresentaram maior média nos escores de exercício voluntário, podendo ser este comportamento ocasionado pelo aumento do tamanho e do peso corporal conforme os animais vão envelhecendo. Esses resultados mostram que os animais mais jovens são mais ativos e fazem mais exercício voluntário do que animais adultos em ambos os ciclos, dados apresentados por Wax e Goodrick (1975) e Wax (1977). Os resultados do exercício físico voluntário, apresentados no actograma, expressam apenas visualmente a quantidade de voltas nas rodas de corrida, sugerindo que animais expostos à RL parecem ter maior atividade quando pertencentes ao grupo controle em relação ao grupo RCIU, mesmo não havendo diferença estatisticamente significativa. Porém, quando os animais foram expostos à RT, o grupo controle parece ter maior atividade apenas na fase 1 (35 dias de vida), já nas fases 2 e 3 acontece uma inversão, onde o grupo RCIU parece ter maior atividade do que o grupo controle. É possível que as diferenças entre os grupos neonatais ao avaliar os escores de exercício físico não tenham sido significativas devido ao número amostral reduzido. No entanto, a quantidade de exercício físico voluntário não era o desfecho principal do presente estudo, visto que as diferenças entre os grupos neonatais já foram avaliadas em um trabalho anterior (CUNHA *et al.*, 2015) no qual os machos restritos apresentaram menor interesse pelo exercício voluntário comparados aos controles. Ficou evidente, nesse estudo, que animais mais novos se exercitam mais do que os animais mais velhos e que se exercitam mais quando são treinados, independentemente da sua origem neonatal.

Também foi possível observar que os animais RCIU - RT apresentaram menor poder de condicionamento à roda de corrida no teste de preferência condicionada de lugar quando comparados aos Controles - RT. Isso foi alterado pela exposição à RL, visto que os grupos controle - RL e RCIU - RL deixaram de demonstrar diferença no delta do CPP quando puderam se exercitar livremente ao longo do desenvolvimento. O resultado obtido quando os

animais foram expostos à RT vai de encontro ao menor condicionamento ao alimento palatável no CPP em animais restritos observado por Dalle Molle *et al.* (2015). De acordo com a literatura, o condicionamento no CPP é dependente de dopamina, e alguns estudos observaram que camundongos *knock out* para receptores D2 (MALDONADO *et al.*, 1997; CUNNINGHAM *et al.*, 2000) condicionam menos frente ao álcool, cocaína e morfina no CPP. Apesar de não existirem diferenças significativas entre os grupos neonatais com relação aos níveis de receptores D2 no NAc no presente estudo, pode-se observar que as médias sugerem menores níveis de receptores D2 no grupo RCIU comparado ao grupo controle quando expostos à RT. Ao contrário, quando expostos à RL, os animais do grupo RCIU parecem ter maiores níveis de receptores D2 comparados aos animais do grupo controle. A possível diferença entre os grupos neonatais expostos à RT, provavelmente não confirmada no presente estudo por falta de poder estatístico, corrobora os resultados de menores níveis de receptores D2 no NAc (DALLE MOLLE *et al.*, 2015) e estriado (CUNHA *et al.*, 2015) de animais com RCIU comparados aos controles.

Não foram observadas diferenças entre os grupos neonatais com relação à quantidade de exercício físico realizado em 24h nos três períodos avaliados (35, 49 e 63 dias de vida) e também não se encontrou diferença nos níveis de receptores D2 no estriado e NAc, receptores que estão também relacionados com a atividade locomotora (MACHADO e HAERTEL, 2013) e não somente com condicionamento à recompensa (BAIK, 2013). Os resultados da literatura com relação ao papel dos receptores D2 na atividade locomotora ainda são controversos. Segundo, Zhu *et al.* (2016), há menor atividade locomotora no grupo com maior ativação de receptores D2 no NAc. Ao contrário, Klinker *et al.* (2013), apresentaram efeito reduzido de treinamento geral na roda de corrida em um modelo utilizando bloqueio de receptores D2. Assim como Kelly *et al.* (1998) e Chausmer *et al.* (2002) apresentaram, em

seus estudos, diminuição da atividade locomotora de ratos observados no período de 30 ou 60 minutos, após bloqueio de receptores D2. Cabe ressaltar que, no presente estudo, as análises realizadas consideraram apenas a quantidade dos receptores e não sua funcionalidade como nos estudos citados acima que bloquearam ou não os receptores do tipo D2.

Podemos ressaltar, a partir dos resultados apresentados no segundo parágrafo da revisão de literatura, que o fato de indivíduos com RCIU se exercitarem menos espontaneamente, coincide com os achados do presente estudo, em que os animais RCIU condicionam menos ao exercício ou tem menos prazer ao exercício. No entanto, a exposição ao exercício ao longo do desenvolvimento reverte esse resultado. Esse achado sugere que a exposição ao exercício físico durante o desenvolvimento pode ser benéfica para indivíduos que sofreram RCIU, contribuindo para a adoção de um estilo de vida mais saudável na fase adulta. A inexistência de diferença entre RCIU e controles na quantidade de exercício físico mensurado nas diferentes fases da vida corrobora essa hipótese, visto que se esperaria que os RCIU fizessem menos exercício voluntário.

O consumo alimentar foi avaliado considerando apenas o consumo de dieta palatável durante as 48 horas após o período de habituação ao aparato Biodaq. O consumo de dieta padrão não foi avaliado, devido ao baixo consumo desse tipo de dieta quando os animais tinham disponível a dieta palatável simultaneamente. Essas análises também foram separadas conforme o período do dia: ciclo claro e escuro. As diferenças no consumo da dieta palatável foram mais evidentes no ciclo escuro, período em que os animais estão mais ativos e consomem maiores quantidades de alimento. O consumo total em gramas e o número médio de porções foram maiores no grupo RCIU quando comparado ao grupo controle somente nos animais SR, durante o ciclo escuro. Essa diferença no número médio de porções, quando os animais tinham acesso à RL ou à RT, de alguma maneira desapareceu, sugerindo haver um

benefício quando a roda de corrida está presente na caixa moradia, independentemente de estar livre ou trancada. Esse resultado sugere que a simples presença da roda de corrida dentro da caixa pode ter funcionado como fator de enriquecimento ambiental (usada para brincadeira quando os animais são mais jovens e estão em desenvolvimento). Ainda no ciclo escuro, quando os animais foram expostos à RT, o grupo controle apresentou um número médio de porções maior que o grupo RCIU. Porém, durante o ciclo claro, na mesma condição (RT), o grupo RCIU apresentou maior tamanho médio da porção (g/porção) quando comparado ao grupo controle. Esse achado parece fazer sentido visto que o grupo RCIU vai buscar o alimento menos vezes, mas compensa isso com o consumo de porções maiores, ou seja, os animais RCIU economizam energia no deslocamento, ingerindo maior quantidade de alimento por porção, apresentando uma característica clássica do fenótipo poupador descrita nos estudos de Hales & Barker, 1992 e Goldman, 2012.

Ao analisarmos o peso corporal (aproximadamente aos 90 dias de vida), observou-se que os animais do grupo controle apresentaram maior peso do que o grupo RCIU quando expostos à RL. Pode-se especular, conforme alguns resultados da literatura citados abaixo, que os animais RCIU submetidos ao exercício aeróbico ao longo do desenvolvimento poderiam apresentar redução da massa muscular magra o que teria impacto no peso corporal. Esse estudo não avaliou o percentual de gordura corporal total, mas foi observado que não houve diferença no percentual de gordura abdominal entre os grupos neonatais, sugerindo que a diferença de peso talvez não seja atribuída à quantidade de gordura corporal, podendo estar na quantidade de massa magra. Laker *et al.* (2012) aplicaram um protocolo de exercícios aeróbicos no início da vida e não observaram melhora do déficit em marcadores do músculo esquelético de ratos restritos. Da mesma forma, Huber *et al.* (2009), encontraram que o exercício moderado diário de longo prazo melhorou globalmente o gasto energético e

metabolismo, mas não apresentou mudança no tamanho ou na distribuição das fibras musculares. Para Kensara *et al.* (2005) e Ylihärsilä *et al.* (2007), o baixo peso ao nascer em humanos está associado a menor massa magra na vida adulta, contribuindo para o risco de sarcopenia e incapacidade funcional. Os estudos de Brutsaert *et al.* (2011) e Dodds *et al.* (2012), sugerem que indivíduos com RCIU desempenhem menos atividade por uma possível falta de musculatura apropriada. Mesmo não tendo analisado as porções musculares no presente trabalho, os estudos citados reforçam a hipótese de que a programação do desenvolvimento muscular dos RCIU seja diferente dos controles, sugerindo um menor desenvolvimento ou até prejuízo na massa muscular daqueles que sofreram RCIU dependendo do exercício físico aplicado. Possivelmente, o exercício físico na roda de corrida não seja eficiente para o aumento de massa muscular, ao contrário o exercício anaeróbio de força é mais indicado para alterações do processo de síntese dos componentes celulares, particularmente dos filamentos proteicos que constituem os elementos contráteis, ocasionando assim hipertrofia muscular (McARDLE *et al.*, 2003; GENTIL, 2006). Curiosamente, a ausência de diferença entre os pesos corporais dos grupos RCIU e controle quando expostos à RT, mostrou que a presença da roda de corrida dentro da caixa, mesmo trancada, foi benéfica para o grupo RCIU, provavelmente porque os animais a usaram para escalar e subir durante o desenvolvimento, apresentando um exercício físico com características anaeróbias e predominantemente com exigência de força. Conforme descrito na literatura, esse tipo de treinamento consiste em exercícios que utilizam a contração voluntária da musculatura esquelética contra qualquer forma de resistência, que pode ser conseguida por meio do próprio corpo, pesos livres ou máquinas (ACSM, 2002; FLECK e KRAEMER, 2007; LOPES, 2008). Confirmando umas das hipóteses, os animais que não tiveram acesso à roda de corrida (SR) apresentaram características do fenótipo poupador, pois o grupo RCIU pesou mais que o grupo controle. No estudo de Vickers *et al.* (2003), os animais cujas genitoras sofreram

restrição alimentar de 30%, apresentaram características de hiperfagia e diminuição da atividade locomotora na idade adulta comparados aos descendentes de mães com dieta controle, mesmo na presença de uma dieta saudável ao longo da vida pós-natal. Ao se considerar o gasto energético, existem evidências de que humanos que sofreram RCIU podem ter níveis de atividade física diminuídos (FERNANDES *et al.*, 2010; CUNHA *et al.*, 2015), contribuindo para o aumento do armazenamento e consequente predisposição para estados metabólicos alterados.

As análises bioquímicas do presente estudo não mostraram diferenças nos níveis de glicose entre os grupos. Já ao analisar os dados de insulina observou-se que os animais do grupo RCIU tiveram maiores níveis de insulina do que os animais do grupo controle, quando expostos à RL. Esse resultado aponta para um possível efeito de programação metabólica intrauterina, indicando que estes animais seriam preparados para ter maior quantidade de insulina disponível para carrear glicose para as células, sendo este um mecanismo protetor desde que a atividade física seja mantida. Em geral, os estudos mostram que a RCIU está relacionada à resistência à insulina na ausência de atividade física (GARG *et al.*, 2009; LAKER *et al.*, 2011). Em nosso estudo, essa medida foi realizada aos 90 dias de vida dos animais, e o grupo RCIU não apresentou maior HOMA-IR que os controles quando expostos à RL ou RT, apesar da maior insulina naqueles expostos à roda livre. Já nos animais SR, encontrou-se que o grupo RCIU apresentou maior HOMA-IR comparado ao grupo controle, indicando maior resistência à insulina. Portanto, a presença da roda de corrida tanto trancada quanto livre parece proteger os animais restritos da resistência à insulina, provavelmente por diferentes mecanismos, já que em uma situação observamos insulina elevada (roda livre) e em outra não (roda trancada). Possivelmente a presença da roda mesmo trancada que possibilitou a realização do exercício anaeróbio durante o desenvolvimento, tenha gerado os melhores

benefícios aos animais com RCIU. Estudos mostram que a atividade física melhora o perfil glicêmico e insulinêmico de indivíduos com RCIU. Segundo Ortega *et al.* (2011), altos níveis de atividade física podem reverter efeitos adversos na insulina de adolescentes nascidos com baixo peso. Também foi demonstrado que a atividade física regular vigorosa ou boa aptidão cardiorrespiratória parece atenuar a associação de baixo peso de nascimento com resistência à insulina e síndrome metabólica na vida adulta (LAAKSONEN *et al.*, 2003). Aoyama *et al.* (2013), apresenta em seus estudos que o baixo peso de nascimento está inversamente associado com HOMA-IR. A intervenção de treinamento de exercícios aeróbico em uma prole de animais restritos foi capaz de suprimir a produção de insulina estimulada pela glicose e a produção de glicose hepática, levando a uma melhora geral da sensibilidade à insulina (GARG *et al.*, 2009). Por outro lado, Ridgway *et al.* (2011), apresenta resultados onde a atividade física não modificou a associação entre baixo peso de nascimento e a resistência a insulina. Estes resultados sugerem que a intensidade e a duração do exercício físico possivelmente tenham influência nos desfechos metabólicos, reforçando assim a importância de novos estudos nesta área.

Conforme revisão realizada por Gatford *et al.* (2014), existem evidências que ligam a RCIU a níveis alterados de atividade física e também descrevem possíveis resultados benéficos sobre o metabolismo dos RCIU ao se utilizar o exercício como intervenção. Ao realizar a revisão de literatura para o presente trabalho, observou-se que a maioria dos estudos clínicos se concentrou no desempenho cardiovascular e alterações musculares como possíveis explicações para a diminuição dos níveis de atividade física dos restritos. Já os estudos experimentais exploraram mais mudanças na sensibilidade à insulina, secreção de leptina, estrutura e função vasculares e musculares. A parte experimental do presente trabalho tentou elucidar a participação do circuito dopaminérgico como possível mecanismo para a alteração

de comportamento nos RCIU, mas estudos adicionais ainda precisam ser realizados para esclarecer os mecanismos neurobiológicos que podem influenciar o comportamento sedentário desta população.

Podemos destacar como pontos positivos do estudo, a realização de uma intervenção longitudinal que demonstrou que o exercício ao longo do desenvolvimento pode apresentar impactos importantes no comportamento dos animais que sofreram RCIU, e a utilização de um sistema computadorizado que permitiu uma avaliação mais detalhada e precisa do comportamento alimentar, um dos principais desfechos do estudo. Por outro lado, tivemos como limitações o pequeno tamanho amostral em algumas análises o que reduziu o poder e impossibilitou observar algumas diferenças, e o fato de termos utilizado controles históricos para os resultados do grupo SR, mas essa limitação é justificada pelo compromisso ético de reduzir o número de animais utilizados em estudos experimentais. Portanto, pesquisas futuras que investiguem intervenções estruturadas em humanos utilizando estudos longitudinais bem planejados e em grande escala podem auxiliar na determinação dos benefícios potenciais do treinamento físico para indivíduos que sofreram RCIU. Além disso, a continuidade de investigações neurobiológicas básicas que detalhem os efeitos do exercício, especificamente neste grupo, podem desvendar mecanismos que permitam melhorar a aplicação desse tipo de intervenção.

8. CONCLUSÃO

Foi possível identificar, baseado nos testes comportamentais, bioquímicos e neuroquímicos que as diferentes exposições ao exercício (roda livre, roda trancada ou não ter acesso à roda) alteraram o consumo de alimento palatável, o condicionamento de lugar na presença de uma recompensa (nesse caso a roda de corrida), o peso corporal, os níveis de

insulina e o HOMA-IR na vida adulta, principalmente no grupo dos animais com RCIU, que apresentam maior risco para piores desfechos comportamentais, metabólicos e conseqüentemente maior chance de desenvolver doenças crônicas. Diferentemente do esperado, não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos neonatais com acesso à roda livre ou roda trancada ao longo do desenvolvimento nos níveis proteicos de receptores D2 no núcleo accumbens e estriado.

Assim, o exercício físico voluntário durante o desenvolvimento apresentou benefícios para os animais com RCIU, independentemente de sua característica aeróbia ou anaeróbia (roda livre ou trancada), comparado aos animais sem acesso à roda de corrida. Frente aos resultados apresentados, sugere-se que as variáveis do treinamento físico, como intensidade, volume e tipo de exercício, tenham influenciado nos desfechos do estudo. Sendo assim, novos delineamentos que envolvam o exercício de força e o controle das variáveis de treinamento físico deverão ser investigados para complementar os resultados do presente estudo.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES MB, MOLLE RD, DESAI M, ROSS MG, SILVEIRA PP. Increased palatable food intake and response to food cues in intrauterine growth-restricted rats are related to tyrosine hydroxylase content in the orbitofrontal cortex and nucleus accumbens. *Behav Brain Res* 2015;287:73-81.

AMERICAN COLLEGE OF SPORTS MEDICINE. Position Stand: Progression Models in Resistance Training for Healthy Adults. *Med Sci Sports Exercise*. Vol. 34. 2002. p. 364-80.

AOYAMA T, TSUSHITA K, MIYATAKE N, et al. Does Cardiorespiratory Fitness Modify the Association between Birth Weight and Insulin Resistance in Adult Life? *Plos One*. 2013;8(9).

BAIK, J.H. Dopamine signaling in reward-related behaviors. *Frontiers in neural circuits*, v. 7, n. October, p. 152, 2013.

BARBIERI MA, PORTELLA AK, SILVEIRA PP, BETTIOL H, AGRANONIK M, SILVA AA, GOLDANI MZ. Severe intrauterine growth restriction is associated with higher spontaneous carbohydrate intake in young women. *Pediatr Res* 2009;65:215-220.

BARKER, D. J. The fetal origins of type 2 diabetes mellitus. ***Ann Intern Med***, United states, v. 130, n. 4 Pt 1, p. 322-4, 1999. ISSN 0003-4819 (Print)0003-4819 (Linking). Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.

BARKER, D.J. The developmental origins of chronic adult disease. *Acta Paediatr Suppl*, v. 93, n. 446, p. 26-33, Dec 2004. ISSN 0803-5326 (Print)0803-5326 (Linking). Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.

BARKER, D.J. Growth in utero and serum cholesterol concentrations in adult life. *Bmj*, v. 307, n. 6918, p. 1524-7, Dec 11 1993. ISSN 0959-8138 (Print)0959-535x. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.

BARKER, D.J. Trajectories of growth among children who have coronary events as adults. *N Engl J Med*, v. 353, n. 17, p. 1802-9, Oct 27 2005. ISSN 0028-4793. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa044160> >.

BARKER, D.J. Weight in infancy and death from ischaemic heart disease. In: (Ed.). *Lancet*. England, v.2, 1989. p.577-80. ISBN 0140-6736 (Print) 0140-6736 (Linking).

BEAULIEU, JM; GAINETDINOV, RR. The physiology, signaling, and pharmacology of dopamine receptors. *Pharmacol Rev*. 2011 Mar;63(1):182-217. doi: 10.1124/pr.110.002642. Epub 2011 Feb 8.

BERENSON GS, SRINIVASAN SR, BAO W, NEWMAN WP, TRACY RE, WATTIGNEY WA. Association between multiple cardiovascular risk factors and atherosclerosis in children and young adults: the Bogalusa heart study. *N Engl J Med*. 1998;338(2):1650-6.

BERTHOUD HR, MORRISON C. The brain, appetite and obesity. *The Annual Review of Psychology*, 59 pp. 55-92, 2008.

BRUTSAERT TD, TAMVADA KH, KIYAMU M, WHITE DD, GAGE TB. Low ponderal index is associated with decreased muscle strength and fatigue resistance in college-aged women. *Early Human Development*. 2011;87(10), 663-669.

CACHO J, SEVILLANO J, de CASTRO J, HERRERA E, RAMOS MP. Validation of simple indexes to assess insulin sensitivity during pregnancy in Wistar and Sprague-Dawley rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2008 Nov;295(5):E1269-76. doi: 10.1152/ajpendo.90207.2008. Epub 2008 Sep 16.

CETIN, I.; MANDO, C.; CALABRESE, S. Maternal predictors of intrauterine growth restriction. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, v. 16, n. 3, p. 310-9, May 2013. ISSN 1363-1950. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1097/MCO.0b013e32835e8d9c> >.

CREWS F, HE J, HODGE C. Adolescent cortical development: a critical period of vulnerability for addiction. *Pharmacol Biochem Behav*. 2007;86:189-99.

CHAUSMER AL, ELMER GI, RUBINSTEIN M, LOW MJ, GRANDY DK, KATZ JL. Cocaine induced locomotor activity and cocaine discrimination in dopamine D2 receptor mutant mice. *Psychopharmacology (Berlin)* 2002;163:54-61.

CUNHA, Fda. S., DALLE MOLLE, R., PORTELLA, A. K., BENETTI, Cda. S., NOSCHANG, C., GOLDANI, M. Z., and SILVEIRA, P. P. (2015) Both food restriction and

high-fat diet during gestation induce low birth weight and altered physical activity in adult rat offspring: the “Similarities in the Inequalities” model. *PLoSOne* 10, e0118586.

CUNNINGHAM, C. L. et al. Ethanol-conditioned place preference is reduced in dopamine D2 receptor-deficient mice. *Pharmacol Biochem Behav*, v. 67, n. 4, p. 693-9, Dec 2000. ISSN 0091-3057 (Print)0091-3057. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.

DALLE MOLLE R, LAUREANO DP, ALVES MB, REIS TM, DESAI M, ROSS MG, SILVEIRA PP (2015a). Intrauterine growth restriction increases the preference for palatable foods and affects sensitivity to food rewards in male and female adult rats. *Brain Res* 1618:41–49.

DALLE MOLLE R, BISCHOFF AR, PORTELLA AK, SILVEIRA PP (2015b). The fetal programming of food preferences: current clinical and experimental evidence. *Journal of Developmental Origins of Health and Disease*. Sep 28:1-9.

DODDS R, DENISON HJ, NTANI G, et al. Birth weight and muscle strength: a systematic review and meta-analysis. *J Nutr Health Aging*. 2012;16(7), 609-615.

D'ORNER, G. (1974) Environment dependent brain organization and neuroendocrine, neurovegetative and neuronal behavioral functions. *Prog. Brain Res*. 41, 221–237.

DURRANT ML, ROYSTON JP, WLOCH RT. Effect of exercise on energy intake and eating patterns in lean and obese humans. *Physiol Behav*. 1982;29:449-54.

ERIKSSON, J. G. et al. Effects of size at birth and childhood growth on the insulin resistance syndrome in elderly individuals. *Diabetologia*, v. 45, n. 3, p. 342-8, Mar 2002. ISSN 0012-186X (Print)0012-186x. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1007/s00125-001-0757-6> >.

EVERO N, HACKETT LC, CLARK RD, PHELAN S, HAGOBIAN TA. Aerobic exercise reduces neuronal responses in food reward brain regions. *J Appl Physiol*. 2012;112:1612-9.

FERNANDES FS, PORTELLA AK, BARBIERI MA, BETTIOL H, SILVA AAM, AGRONONIK M, SILVEIRA PP, GOLDANI MZ. Risk factors for sedentary behavior in young adults: similarities in the inequalities. *J Dev Orig Hlth Dis*. 2010;1(4), 255-261.

FLECK SJ, KRAEMER, WJ. Fundamentos do Treinamento de Força Muscular. Artmed, 3ª ed. Porto Alegre, 2007.

GARG M, THAMOTHARAN M, OAK SA, et al. Early exercise regimen improves insulin sensitivity in the intrauterine growth-restricted adult female rat offspring. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 2009;296(2), E272-E281.

GENTIL, P. *Bases Científicas do Treinamento de Hipertrofia*. 2º edição. Rio de Janeiro: Sprint, 2006.

GODFREY, K. M.; BARKER, D. J. Fetal programming and adult health. *Public Health Nutr*, v. 4, n. 2B, p. 611-24, Apr 2001. ISSN 1368-9800 (Print)1368-9800 (Linking). Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.

GOLDMAN D. *Our Genes, Our Choices*. How genotype and gene interactions affect behavior. (ed. Elsevier), 2012; pp. 1-4.

GUARINO MP, SANTOS AI, MOTA-CARMO M, COSTA PF. Effects of anaesthesia on insulin sensitivity and metabolic parameters in Wistar rats. *In Vivo*. 2013 Jan-Feb;27(1):127-32.

GURWITZ D. Physical activity: good for your health, very good for your gene expression. *Clin Genet* 2000;57:249-56.

GUST DA, GORDON TP, BRIDIE AR, McCLURE HM. Effect of a preferred companion in modulating stress in adult female rhesus monkeys. *Physiology and Behaviour*, v. 55, n. 4, p. 681-684, 1994.

HALES CN, BARKER DJ. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. *Diabetologia*. 1992;35(7), 595-601.

HUBER K, MILES JL, NORMAN AM, THOMPSON NM, DAVISON M, BREIER BH. Prenatally induced changes in muscle structure and metabolic function facilitate exercise-induced obesity prevention. *Endocrinology* 150: 4135–4144, 2009.

KELLEY, A. E. Ventral striatal control of appetitive motivation: role in ingestive behavior and reward-related learning. *Neurosci Biobehav Rev*, v. 27, n. 8, p. 765-76, Jan 2004. ISSN 0149-7634 (Print)0149-7634. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.neubiorev.2003.11.015> >.

KELLY MA, RUBINSTEIN M, PHILLIPS TJ, LESSOV CN, BURKHART-KASCH S, ZHANG G, et al. Locomotor activity in D2 dopamine receptor-deficient mice is determined by gene dosage, genetic background, and developmental adaptations. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 1998;18:3470–9.

KENSARA OA, WOOTTON SA, PHILLIPS DI, PATEL M, JACKSON AA, ELIA M. 2005 Fetal programming of body composition: relation between birth weight and body composition measured with dual-energy x-ray absorptiometry and anthropometric methods in older Englishmen. *Am J Clin Nutr* 82:980–987.

KHAZIPOV R, LUHMANN HJ. Early patterns of electrical activity in the developing cerebral cortex of humans and rodents. *Trends Neurosci.* 2006;29:414-8.

KING NA, BURLEY VJ, BLUNDELL JE. Exercise-induced suppression of appetite: effects on food intake and implications for energy balance. *Eur J Clin Nutr.* 1994;48:715-24.

KING NA, CAUDWELL PP, HOPKINS M, STUBBS JR, NASLUND E, BLUNDELL JE. Dual-process action of exercise on appetite control: increase in orexigenic drive but improvement in meal-induced satiety. *Am J Clin Nutr.* 2009;90:921-7.

KLINKER F, HASAN K, PAULUS W, NITSCHKE M A, LIEBETANZ D. Pharmacological blockade and genetic absence of the dopamine D2 receptor specifically modulate voluntary locomotor activity in mice. *Behavioural Brain Research* 242 (2013) 117– 124.

LAAKSONEN DE, LAKKA HM, LYNCH J, et al. Cardiorespiratory fitness and vigorous leisure-time physical activity modify the association of small size at birth with the metabolic syndrome. *Diabetes Care.* 2003;26(7), 2156-2164.

LAKER RC, GALLO LA, WLODEK ME, SIEBEL AL, WADLEY GD, MCCONELL GK. Short-term exercise training early in life restores deficits in pancreatic beta-cell mass associated with growth restriction in adult male rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2011;301(5), E931-940.

LAKER RC, WLODEK ME, WADLEY GD, GALLO LA, MEIKLE PJ and MCCONEL GK. Exercise early in life in rats born small does not normalize reductions in skeletal muscle PGC-1 in adulthood. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 302: E1221–E1230, 2012.

LAUREANO DP, DALLE MOLLE R, ALVES MB, LUFT C, DESAI M, ROSS MG, SILVEIRA PP. Intrauterine growth restriction modifies the hedonic response to sweet taste in newborn pups - Role of the accumbal μ -opioid receptors. *Neuroscience*, v. 322, p. 500-508, 2016.

LAW, C. M. et al. Fetal, infant, and childhood growth and adult blood pressure: a longitudinal study from birth to 22 years of age. *Circulation*, v. 105, n. 9, p. 1088-92, Mar 5 2002. ISSN 0009-7322. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.

LOPES, M.H. Exercícios de Força em Obesos Promove o Emagrecimento. Trabalho de Conclusão de Curso de Especialização. UGF-MG. Belo Horizonte. 2008.

LUSSANA F, PAINTER RC, OCKE MC, BULLER HR, BOSSUYT PM, ROSEBOOM TJ. Prenatal exposure to the Dutch famine is associated with a preference for fatty foods and a more atherogenic lipid profile. *Am J Clin Nutr* 2008;88:1648-1652.

MACHADO TD, DALLE MOLLE R, LAUREANO DP, PORTELLA AK, WERLANG ICR, BENETTI CS, NOSCHANG C, SILVEIRA PP. Early life stress is associated with anxiety, increased stress responsivity and preference for “comfort foods” in adult female rats. *The International Journal on the Biology of Stress*. 2013;16:549-556.

MACHADO A, HAERTEL LM. Neuroanatomia Funcional. Editora Atheneu Rio, 3ª ed. 2013.

MALDONADO, R. et al. Absence of opiate rewarding effects in mice lacking dopamine D2 receptors. *Nature*, v. 388, n. 6642, p. 586-9, Aug 7 1997. ISSN 0028-0836 (Print)0028-0836. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1038/41567> >.

MAYER J, ROY P, MITRA KP. Relation between caloric intake, body weight, and physical work: studies in an industrial male population in West Bengal. *Am J Clin Nutr*. 1956;4:169-75.

McARDLE, W. D; KATCH, F. I; KATCH, V. L. Fisiologia do Exercício – Energia, Nutrição e Desempenho Humano. 5ª edição. Rio de Janeiro. Editora Guanabara Koogan, 2003.

MINOR MA, HEWERT JE, WEBEL RR, ANDERSON SK, KAY DR. Efficacy of physical conditioning exercise in patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 1989;32:1396-405.

MISSALE C, NASH S.R., ROBINSON S.W., JABER M., and CARON M.G. Dopamine receptors: from structure to function. *Physiol Rev.* 1998;78:189-225.

MORTON, GJ; CUMMINGS, DE; BASKIN, DG; BARSH, GS; SCHWARTZ, MW. . Central nervous system control of food intake and body weight. *Nature* 443, 289-295 (21 September 2006) | doi:10.1038/nature05026.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*. Washington, DC, National Academis Press, 1996, 220p.

NOGUEIRAS, R; ROMERO-PICÓ,A; VAZQUEZ, MJ; NOVELLE, MG; LÓPEZ,M; DIÉGUEZ, C. The Opioid System and Food Intake: Homeostatic and Hedonic Mechanisms. *Obesity Facts* 2012;5:196–207. DOI:10.1159/000338163.

ORTEGA FB, RUIZ JR, HURTIG-WENNLOF A, et al. Physical Activity Attenuates the Effect of Low Birth Weight on Insulin Resistance in Adolescents Findings From Two Observational Studies. *Diabetes.* 2011;60(9), 2295-2299.

PAXINOS, G.; WATSON, C. *The rat brain in stereotaxic coordinates*. 6th edition. Elsevier, 2007.

PAFFENBARGER RS Jr, BLAIR SN, LEE IM. A history of physical activity, cardiovascular health and longevity: the scientific contributions of Jeremy N Morris, DSc, DPH, FRCP. *Int J Epidemiol* 30: 1184–1192, 2001.

PILGAARD, K. et al. Differential nongenetic impact of birth weight versus third-trimester growth velocity on glucose metabolism and magnetic resonance imaging abdominal obesity in young healthy twins. *J Clin Endocrinol Metab*, v. 96, n. 9, p. 2835-43, Sep 2011. ISSN 0021-972x. Disponible em: < <http://dx.doi.org/10.1210/jc.2011-0577> >.

RANGEL-BARAJAS, C, et al. Rangel-Barajas C, Coronel I, Florán B. Dopamine Receptors and Neurodegeneration. *Aging and Disease.* 2015;6(5):349-368. doi:10.14336/AD.2015.0330.

RAVELLI, A. C. et al. Obesity at the age of 50 y in men and women exposed to famine prenatally. *Am J Clin Nutr*, v. 70, n. 5, p. 811-6, Nov 1999. ISSN 0002-9165 (Print)0002-9165. Disponible em: < <http://dx.doi.org/> >.

REINHARDT V. Behavioral responses of unrelated adult male rhesus monkeys familiarized and paired for the purpose of environmental enrichment. *American Journal of Primatology*, v. 17, n. 3, p. 243-248, 1989.

RIDGWAY CL, BRAGE S, SHARP SJ, et al. Does Birth Weight Influence Physical Activity in Youth? A Combined Analysis of Four Studies Using Objectively Measured Physical Activity. *Plos One*. 2011;6(1).

ROBINSON, T. E.; BERRIDGE, K. C. The psychology and neurobiology of addiction: an incentive-sensitization view. *Addiction*, v. 95 Suppl 2, p. S91-117, Aug 2000. ISSN 0965-2140 (Print)0965-2140. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.

SAHA JK, XIA J, GRONDIN JM, ENGLE SK, JAKUBOWSKI JA. Acute hyperglycemia induced by ketamine/xylazine anesthesia in rats: mechanisms and implications for preclinical models. *ExpBiol Med* (Maywood). 2005 Nov;230(10):777-84.

SCARR, E; GIBBONS, A; NEO, J; UDAWELA, M; DEAN, B. Cholinergic connectivity: it's implications for psychiatric disorders. *Front. Cell. Neurosci.*, 03 May 2013.
<http://dx.doi.org/10.3389/fncel.2013.00055>.

SCHULTZ, W. Updating dopamine reward signals. *Current Opinion in Neurobiology*. Volume 23, Issue 2, April 2013, Pages 229–238.

SHARP N. Activity of children-health through sport, exercise and fitness? In: Chan KM, Micheli LJ. *Sport and children*. Champaign: Human kinetics; 1998. p. 39-49.

SHERWIN, C.M. The use and perceived importance of three resources which provide caged laboratory mice the opportunity for extended locomotion. *Applied Animal Behavior Science*, v. 55, n. 4, p. 353-367, 1998.

SILVEIRA P.P. PORTELLA A.K., GOLDANI M.Z., BARBIERI M.A. Origens desenvolvimentistas da saúde e da doença (DOHaD) *J Pediatr* (Rio J). 2007;83(6):494-504.

SINGHAL A, COLE TJ, FEWTRELL M, DEANFIELD J, LUCAS A. Is slower early growth beneficial for long-term cardiovascular health? *Circulation*. 2004;109:1108-13.

SINGHAL A, COLE TJ, FEWTRELL M, KENNEDY K, STEPHENSON T, ELIAS-JONES A, et al. Promotion of faster weight gain in infants born small for gestational age: is there an adverse effect on later blood pressure? *Circulation*. 2007;115:213-20.

STATEN MA. The effect of exercise on food intake in men and women. *Am J Clin Nutr*. 1991;53:27-31.

STUBBS RJ, SEPP A, HUGHES DA, et al. The effect of graded levels of exercise on energy intake and balance in freelifving men, consuming their normal diet. *Eur J Clin Nutr*. 2002a;56:129-40.

STUBBS RJ, SEPP A, HUGHES DA, et al. The effect of graded levels of exercise on energy intake and balance in freelifving women. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2002b;26:866-9.

TWISK JW, KEMPER HC, VAN MECHELEN W, POST GB. Tracking of risk factors for coronary heart disease over a 14-year period: a comparison between lifestyle and biologic risk factors with data from the Amsterdam Growth and Health Study. *Am J Epidemiol*. 1997;145(10):888-98.

VICKERS MH, BREIER BH, MCCARTHY D, GLUCKMAN PD. Sedentary behavior during postnatal life is determined by the prenatal environment and exacerbated by postnatal hypercaloric nutrition. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2003;285:R271–R273. [PubMed: 12794001].

VOLKOW, N. D.; FOWLER, J. S. Addiction, a disease of compulsion and drive: involvement of the orbitofrontal cortex. *Cereb Cortex*, v. 10, n. 3, p. 318-25, Mar 2000. ISSN 1047-3211 (Print)1047-3211. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.

WATERLAND, R.A.(2014) Epigenetic mechanisms affecting regulation of energy balance: many questions, few answers. *Annu. Rev. Nutr.* 34, 337–355.

WAX, T.M.; GOODRICK, C.L. Voluntary exposure to light by young and aged albino and pigmented inbred mice as a function of light intensity. *Dev Psychobiol*. 1975 Jul;8(4):297-303.

WAX, T.M. Effects of age, strain, and illumination intensity on activity and self-selection of light-dark schedules in mice. *J Comp Physiol Psychol*. 1977 Feb;91(1):51-62

WHARY M, PEPPER R, BORKOWSKI G, LAWRENCE W, FERGUSON F. The effects of group housing on the research use of the laboratory rabbit. *Laboratory Animals*, v. 27, n. 4, p. 330-341, 1993.

WHYBROW S, HUGHES DA, RITZ P, et al. The effect of an incremental increase in exercise on appetite, eating behaviour and energy balance in lean men and women feeding ad libitum. *Br J Nutr*. 2008;100:1109-15.

YLIHARSILA H, KAJANTIE E, OSMOND C, FORSEN T, BARKER DJP, ERIKSSON JG. Birth size, adult body composition and muscle strength in later life. *International Journal of Obesity*. 2007;31(9), 1392-1399.

ZHANG, Y; BERTOLINO, A; FAZIO, L et al. Polymorphisms in human dopamine D2 receptor gene affect gene expression, splicing, and neuronal activity during working memory. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2007;104(51):20552-20557. doi:10.1073/pnas.0707106104

ZHENG, H; LENARD, N; SCHIN, A; BERTHOUD, H-R. Appetite control and energy balance regulation in the modern world: Reward-driven brain overrides repletion signals. *International journal of obesity (2005)*. 2009;33(Suppl 2):S8-13. doi:10.1038/ijo.2009.65.

ZHU, X; OTTENHEIMER, D; DILEONE, RJ. Activity of D1/2 Receptor Expressing Neurons in the Nucleus Accumbens Regulates Running, Locomotion, and Food Intake. *Front. Behav. Neurosci*. 10:66. April 2016, Volume 10, Article 66 doi: 10.3389/fnbeh.2016.00066.