



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS: FISILOGIA

EFEITOS DA MODIFICAÇÃO ALIMENTAR E EXERCÍCIO FÍSICO
SOBRE ALTERAÇÕES PRODUZIDAS PELA DIETA DE CAFETERIA
EM RATAS

Dissertação de Mestrado

Jéferson Ferraz Goularte

Porto Alegre/RS

2011

CIP - Catalogação na Publicação

Goularte, Jéferson Ferraz

Efeitos da modificação alimentar e exercício físico sobre alterações produzidas pela dieta de cafeteria em ratas / Jéferson Ferraz Goularte. -- 2011. 90 f.

Orientador: Gilberto Luiz Sanvitto.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Fisiologia, Porto Alegre, BR-RS, 2011.

1. Obesidade. 2. Dieta de cafeteria. 3. Exercício físico. 4. Modificação alimentar. I. Sanvitto, Gilberto Luiz, orient. II. Título.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS: FISILOGIA

EFEITOS DA MODIFICAÇÃO ALIMENTAR E EXERCÍCIO FÍSICO
SOBRE ALTERAÇÕES PRODUZIDAS PELA DIETA DE CAFETERIA
EM RATAS

Jéferson Ferraz Goularte

Orientador: Prof. Dr. Gilberto Luiz Sanvitto

Dissertação apresentada à Banca Examinadora do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Fisiologia, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como exigência parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas: Fisiologia.

Porto Alegre, 2011

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Gilberto Luiz Sanvitto pela orientação ao longo do curso de mestrado e por sua disponibilidade em auxiliar na resolução das dificuldades sempre existentes durante a redação desta dissertação.

Aos professores da banca examinadora Prof.^a Dr.^a Maria Flávia Marques, Prof.^a Iraci Lucena da Silva Torres e Prof.^a Dr.^a Martine Elisabeth Kienzle Hagen pelo aceite em avaliar esta dissertação.

À Prof.^a Adriane Belló-Klein pela disponibilidade de seu laboratório para a realização de experimentos desenvolvidos nesta dissertação. A todos os membros de seu laboratório, sem exceção, que sempre ajudaram com a realização dos experimentos quando solicitados. Ao Dhaniel Baraldi pelo auxílio nas dosagens de glicose e insulina.

À Luisa Jussara Coelho e Isabel Cristina de Macedo pela disponibilidade e auxílio na parte estatística.

A todos os colegas do laboratório de Neuroendocrinologia do Comportamento, mas em especial ao colega Marcelo Alves de Souza pelas longas conversas.

Às veterinárias Lorena Floriani Orlandini e Fernanda Bassos de Mello pela ajuda com a parte de cuidados e manejo adequado com os animais. À dona Geni e os demais funcionários do CREAL pelo excelente serviço prestado.

A todos os colegas de mestrado que sempre foram importantes para a troca de conhecimentos.

Aos meus pais pelos ensinamentos e esforços na tentativa de propiciar as melhores condições de aprendizado.

À minha maravilhosa esposa que acompanhou todos os momentos dessa longa caminhada e foi fundamental para a finalização desta dissertação. Sem ela nada disso seria possível. À minha esposa meu carinho e todo meu amor.

SUMÁRIO

RESUMO	viii
ABSTRACT	ix
LISTA DE ABREVIATURAS	x
LISTA DE TABELAS E FIGURAS	xii
1. INTRODUÇÃO	1
1.1 Obesidade.....	1
1.2 Mudanças no estilo vida e Obesidade	2
1.3 Doenças associadas à Obesidade	6
1.4 Obesidade e tecido adiposo visceral	8
1.5 Modelos de obesidade em animais: Dieta de Cafeteria	10
1.6 Tratamento da obesidade	11
1.6.1 Modificações Alimentares	12
1.6.2 Exercício Físico	13
2. HIPÓTESE	15
3. OBJETIVOS	15
4. MATERIAIS E MÉTODOS	16
4.1 Delineamento	16
4.2 Animais	16

4.3 Ração Padrão	16
4.4 Dieta de Cafeteria	17
4.5 Grupos Experimentais	17
4.5.1 Experimento 1: Efeito da dieta de cafeteria desde o desmame sobre a ingestão alimentar, peso corporal, peso dos órgãos, pressão arterial, regularidade do ciclo estral, comportamento sexual, concentrações de glicose plasmática e insulina após 26 semanas	17
4.5.2 Experimento 2: Efeito da modificação alimentar e/ou exercício por 8 semanas sobre os desfechos produzidos pela dieta de cafeteria	18
4.6 Avaliação da ingestão alimentar	19
4.7 Peso Corporal	19
4.8 Ciclo Estral	19
4.9 Registro de Pressão Arterial	20
4.10 Análise do comportamento sexual	21
4.11 Coleta de Sangue	21
4.12 Retirada de órgãos	22
4.13 Modificação Alimentar	22
4.14 Exercício Físico	22
4.15 Dosagem plasmática de Insulina	23
4.16 Dosagem plasmática de Glicose	23
4.17 Análise Estatística	23
5. RESULTADOS	25
5.1 Experimento 1: Efeito da dieta de cafeteria desde o desmame sobre a ingestão alimentar, peso corporal, peso dos órgãos, pressão arterial, regularidade do ciclo estral, comportamento sexual, concentrações de glicose plasmática e insulina após 26 semanas.	25
5.2 Experimento 2: Efeito da modificação alimentar e/ou exercício por 8 semanas sobre os desfechos produzidos pela dieta de cafeteria	34

6. DISCUSSÃO	43
6.1 Experimento 1: Efeito da dieta de cafeteria desde o desmame sobre a ingestão alimentar, peso corporal, peso dos órgãos, pressão arterial, regularidade do ciclo estral, comportamento sexual, concentrações de glicose plasmática e insulina após 26 semanas	43
6.2 Experimento 2: Efeito da modificação alimentar e/ou exercício por 8 semanas sobre os desfechos produzidos pela dieta de cafeteria	49
7. CONCLUSÃO	54
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55

RESUMO

A obesidade afeta um número considerável de pessoas em todo o mundo e é caracterizada pelo acúmulo excessivo de tecido adiposo. A epidemia de obesidade parece ser o resultado de mudanças nos alimentos, nos hábitos alimentares e nos níveis de atividade física, sendo que a obesidade é considerada um fator de risco importante para o desenvolvimento de doenças como o *diabetes mellitus* tipo 2. Recentemente, a distribuição de gordura corporal na região intra-abdominal passou a ser mais importante para o entendimento das desordens metabólicas relacionadas à obesidade do que propriamente a deposição geral de gordura corporal. Os modelos animais são frequentemente utilizados para o estudo da obesidade e desordens associadas, sendo que a dieta de cafeteria é um modelo animal que reproduz de forma aproximada o padrão alimentar observado em muitos países e que está associado com a epidemia de obesidade. Para tratar a obesidade e suas complicações, modificações do padrão alimentar e a prática de exercício físico são fortemente recomendadas. Assim, considerando que a obesidade está associada a modificações do estilo de vida e mudanças no padrão alimentar, o presente estudo testou a hipótese de que o quadro de obesidade e as alterações metabólicas produzidas pela dieta de cafeteria podem ser revertidas com a modificação alimentar e/ou exercício físico. Foram utilizadas ratas com 21 dias de idade expostas inicialmente ao experimento 1 que estudou o “Efeito da dieta de cafeteria desde o desmame sobre a ingestão alimentar, peso corporal, peso dos órgãos, pressão arterial, ciclo estral, concentrações plasmáticas de insulina e glicose após 26 semanas” enquanto o experimento 2 avaliou o “Efeito da modificação alimentar e/ou exercício físico por 8 semanas sobre os desfechos produzidos pela dieta de cafeteria.” No experimento 1 os animais receberam dieta de cafeteria ou ração padrão e água por 26 semanas. No experimento 2 alguns animais foram mantidos no mesmo regime do experimento 1 por 34 semanas, enquanto outros animais foram mantidos no mesmo regime do experimento 1 e submetidos ao exercício ou à retirada da dieta de cafeteria por 8 semanas. Os resultados mostraram que a dieta de cafeteria resultou em menor ingestão de ração padrão, ganho de peso corporal, aumento de tecido adiposo visceral e do peso do fígado e redução do peso ovariano, além de resistência insulínica após 26 semanas de intervenção, porém sem piora da regularidade do ciclo estral ou do comportamento sexual. A retirada da dieta resultou em ingestão energética semelhante aos controles, além de reduzir o peso corporal, o peso do tecido adiposo visceral e o peso do fígado. Adicionalmente, o exercício físico foi capaz de aumentar a ingestão de água e a ingestão energética total, porém sem afetar o peso corporal ou a massa de tecido adiposo, além de aumentar a sensibilidade à insulina. Assim, o presente trabalho concluiu que a exposição à alimentação industrializada provocou obesidade e alterações metabólicas associadas e que a mudança de alimentação foi suficiente para melhorar o padrão alimentar e os desfechos produzidos pela dieta de cafeteria e que o exercício foi capaz de aumentar a sensibilidade à insulina mesmo em ratos obesos com um padrão alimentar contendo alimentos industrializados e de baixo valor nutricional.

ABSTRACT

Obesity affects a large number of people around the world and is characterized by excessive accumulation of adipose tissue. The obesity epidemic appears to be the result of changes in food, eating habits and levels of physical activity. The obesity is considered an important risk factor for the development of diseases such as type 2 diabetes mellitus. Recently, body fat distribution in intra-abdominal region has become more important for the understanding of metabolic disorders related to obesity than actually the general distribution of body fat. Animal models are often used for the study of obesity and associated disorders, and the cafeteria diet is an animal model which reproduces the approximate feeding pattern observed in many countries and is associated with the obesity epidemic. To treat obesity and its complications, changes in dietary patterns and physical exercise are strongly recommended. Thus, considering that obesity is associated with changes in lifestyle and changes in eating patterns, this study tested the hypothesis that obesity and metabolic changes produced by the cafeteria diet can be reversed with dietary modification or exercise. We used 21-day-old female rats which were initially exposed to experiment 1, which studied the “Effect of cafeteria diet from weaning on food intake, body weight, organ weight, blood pressure, estrous cycle and plasma insulin and glucose level after 26 weeks” while the experiment 2 evaluated the "Effect of dietary modification and exercise for 8 weeks on the outcomes produced by the cafeteria diet. Initially the animals were fed a cafeteria diet or chow and water for 26 weeks. In the second experiment some animals were kept in the same scheme of experiment 1 for 34 weeks, while other animals were kept in the same scheme of the experiment 1 and submitted to exercise or withdrawal of the cafeteria diet for 8 weeks. The results showed that the cafeteria diet resulted in chow intake reduction, weight gain, increased visceral adipose tissue and liver weight, and reduced ovarian weight, besides insulin resistance after 26 weeks of intervention, but with no worsening of the regular estrous cycle or sexual behavior. The withdrawal of the cafeteria diet led to an energy intake similar to the control group, besides reduced body weight, visceral adipose tissue and liver weight. Additionally, exercise was able to increase the water intake and total energy intake, without affecting body weight or adipose tissue mass, and improve insulin sensitivity. Thus, this study found that exposure to industrialized food caused obesity and related metabolic disorders and that the change of diet was sufficient to increase chow intake and the outcomes produced by the cafeteria diet, and that exercise was able to increase insulin sensitivity even in obese rat submitted to diet containing industrialized foods.

LISTA DE ABREVIATURAS

HDL: Lipoproteína de alta densidade

HOMA-IR: Modelo de Acessório Homeostático - Resistência à Insulina

IMC: Índice de Massa Corporal

LDL: Lipoproteína de baixa densidade

kcal: Quilocaloria

CT: Colesterol Total

MET: Unidade de equivalente metabólico

TG: Triglicerídeos

PA: Pressão Arterial

EO: Componente endógeno semelhante à uobaína

WHO: World Health Organization

NHANES: National Health and Nutrition Examination Survey

POF: Pesquisa de Orçamentos Familiares

CDC: Center for Disease Control and Prevention

USDA: United State Department of Agriculture

DM2: *Diabetes Mellitus* tipo 2

HFCS: Xarope de milho com alta concentração de frutose

PAS: Pressão arterial sistólica

HAS: Hipertensão arterial sistêmica

SOPC: Síndrome de ovários policísticos

TNF- α : Fator de Necrose Tumoral-Alfa

kDa: Quilodálon

ERK-1/2: Regulador extracelular de cinase-1/2

IRS-1: Substrato do receptor de insulina-1

NPY: Neuropeptídeo Y

AgRp: Proteína relacionada ao Agouti

POMC: Pró-opiomelanocortina

ARC: Núcleo arqueado

DA: Dopamina

NAc: núcleo Accumbens

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

Tabela 1. Grupos alimentares ofertados para os animais em dias alternados.....	17
Tabela 2. Contribuição de cada padrão alimentar consumido para a quantidade de sódio total (mg) ingerida por animal/dia na 26 ^a semana de experimento em cada grupo.....	26
Figura 1. A. Ingestão de ração padrão por animal/dia, B. ingestão de água por animal/dia, C. ingestão líquida total por animal/dia e D. ingestão de sódio por animal/dia na 26 ^a semana de experimento. Os valores são média \pm E.P.M. PAD (Controle, n=12) e CAF (Dieta, n=12).....	26
Figura 2. A. Ingestão de carboidratos por animal/dia, B. ingestão de proteínas por animal/dia e C. ingestão de lipídeos por animal/dia na 26 ^a semana de experimento. Os valores são média \pm E.P.M. PAD (Controle, n=12) e CAF (Dieta, n=12).....	27
Figura 3. A. Ingestão energética total por animal/dia, B. ingestão energética de sólidos e C. peso corporal na 26 ^a semana de experimento. Os valores são média \pm E.P.M. PAD (Controle, n=12) e CAF (Dieta, n=12).....	28
Figura 4. Ingestão energética total por animal/dia ao longo de 25 semanas de experimento. Os valores são média \pm E.P.M. PAD (Controle, n=12) e CAF (Dieta, n=12).....	29
Figura 5. Ingestão energética de sólidos por animal/dia ao longo de 25 semanas de experimento. Os valores são média \pm E.P.M. PAD (Controle, n=12) e CAF (Dieta, n=12)....	30
Figura 6. Ingestão energética de refrigerante por animal/dia ao longo de 26 semanas de experimento no grupo CAF (Dieta, n=12). Os valores são média \pm E.P.M.....	30
Figura 7. Peso corporal semanal ao longo de 25 semanas de experimento. Os valores são média \pm E.P.M. PAD (Controle, n=12) e CAF (Dieta, n=12).....	31
Figura 8. A. Peso do tecido adiposo visceral abdominal, B. peso do fígado e C. peso ovariano na 26 ^a semana de experimento. Os valores são média \pm E.P.M. PAD (Controle, n=12) e CAF (Dieta, n=12).....	32
Figura 9. Pressão arterial sistólica caudal na 26 ^a semana de experimento. Os valores são média \pm E.P.M. PAD (Controle, n=12) e CAF (Dieta, n=12).....	32

Figura 10. **Regularidade do ciclo estral e Comportamento Sexual.** **A.** Número de ciclo estral, **B.** duração média do ciclo estral e **C.** duração média das fases do ciclo estral da 7ª até a 26ª semana de experimento. **D.** Comportamento sexual avaliado pelo índice monta/lordose na noite do proestro. Os valores são média \pm E.P.M. PAD (Controle, n=12) e CAF (Dieta, n=12).....33

Figura 11. **A.** Concentração plasmática de glicose após jejum de 12-13 horas, **B.** concentração plasmática de insulina após jejum de 12-13 horas e **C.** e índice de resistência insulínica HOMA-IR na 26ª semana de experimento. Os valores são média \pm E.P.M. PAD (Controle, n=12) e CAF (Dieta, n=12).....34

Figura 12. **A.** Ingestão de ração padrão por animal/dia, **B.** ingestão de água por animal/dia, **C.** ingestão líquida total por animal/dia e **D.** ingestão de sódio por animal/dia na 34ª semana de experimento. PAD-PAD-SED (Controle-Controle-Sedentário, n=11), CAF-CAF-SED (Dieta-Dieta-Sedentário, n=10), CAF-PAD-SED (Dieta-Modificação Alimentar-Sedentário, n=12), CAF-CAF+EX (Dieta-Dieta+Exercício, n=12) e CAF-PAD+EX (Dieta-Modificação Alimentar+Exercício, n=11). ANOVA de uma via com pós teste Newman-Keuls. Os valores são média \pm E.P.M. Letras diferentes indicam diferença entre os grupos com $P < 0,05$. No grupo PAD-PAD-SED líquido total é apenas água e no grupo CAF-CAF-SED líquido total é a soma da ingestão de água e refrigerante.....36

Figura 13. **A.** Ingestão de carboidrato por animal/dia, **B.** ingestão de proteína por animal/dia e **C.** ingestão de lipídeo por animal/dia na 34ª semana de experimento. PAD-PAD-SED (Controle-Controle-Sedentário, n=11), CAF-CAF-SED (Dieta-Dieta-Sedentário, n=10), CAF-PAD-SED (Dieta-Modificação Alimentar-Sedentário, n=12), CAF-CAF+EX (Dieta-Dieta+Exercício, n=12) e CAF-PAD+EX (Dieta-Modificação Alimentar+Exercício, n=11). ANOVA de uma via com pós teste Newman-Keuls. Os valores são média \pm E.P.M. Letras diferentes indicam diferença entre os grupos com $P < 0,05$37

Figura 14. **A.** Ingestão de energia por animal/dia, **B.** ingestão energética de sólidos por animal/dia e **C.** peso corporal na 34ª semana de experimento. PAD-PAD-SED (Controle-Controle-Sedentário, n=11), CAF-CAF-SED (Dieta-Dieta-Sedentário, n=10), CAF-PAD-SED (Dieta-Modificação Alimentar-Sedentário, n=12), CAF-CAF+EX (Dieta-Dieta+Exercício, n=12) e CAF-PAD+EX (Dieta-Modificação Alimentar+Exercício, n=11). ANOVA de uma

via com pós teste Newman-Keuls. Os valores são média \pm E.P.M. Letras diferentes indicam diferença entre os grupos com $P < 0,05$38

Figura 15. **A.** Peso do tecido adiposo visceral, **B.** peso do fígado e **C.** peso ovariano na 34ª semana de experimento. PAD-PAD-SED (Controle-Controle-Sedentário), CAF-CAF-SED (Dieta-Dieta-Sedentário), CAF-PAD-SED (Dieta-Modificação Alimentar-Sedentário), CAF-CAF+EX (Dieta-Dieta+Exercício) e CAF-PAD+EX (Dieta-Modificação Alimentar+Exercício). ANOVA de uma via com pós teste Newman-Keuls. Os valores são média \pm E.P.M. Letras diferentes indicam diferença entre os grupos com $P > 0,05$. Tecido adiposo visceral (n=10-12); Fígado (n=9-12); Ovário (n=10-12).....39

Figura 16. Pressão arterial sistólica caudal na 34ª semana de experimento. PAD-PAD-SED (Controle-Controle-Sedentário, n=10), CAF-CAF-SED (Dieta-Dieta-Sedentário, n=10), CAF-PAD-SED (Dieta-Modificação Alimentar-Sedentário, n=11), CAF-CAF+EX (Dieta-Dieta+Exercício, n=12) e CAF-PAD+EX (Dieta-Modificação Alimentar+Exercício, n=11). Os valores são média \pm E.P.M. Letras iguais indicam ausência de diferença significativa entre os grupos experimentais com $P > 0,05$40

Figura 17. **Regularidade do ciclo estral e Comportamento sexual.** **A.** número de ciclo estral da 29ª a 34ª semana de experimento, **B.** duração média do ciclo estral, **C.** duração média da fase proestro, **D.** duração média da fase estro, **E.** duração média da fase metaestro, **F.** duração média da fase diestro. **E.** Índice monta/lordose na 34ª semana de experimento. PAD-PAD-SED (Controle-Controle-Sedentário), CAF-CAF-SED (Dieta-Dieta-Sedentário), CAF-PAD-SED (Dieta-Modificação Alimentar-Sedentário), CAF-CAF+EX (Dieta-Dieta+Exercício) e CAF-PAD+EX (Dieta-Modificação Alimentar+Exercício). ANOVA de uma via. Os valores são média \pm E.P.M. Letras iguais indicam ausência de diferença entre os grupos experimentais com $P > 0,05$41

Figura 18. **A.** Concentração plasmática de glicose após jejum de 12-13 horas, **B.** concentração plasmática de insulina após jejum de 12-13 horas e **C.** e índice de resistência insulínica HOMA-IR na 34ª semana de experimento. Os valores são média \pm E.P.M. **PAD-PAD-SED** (Controle-Controle-Sedentário), **CAF-CAF-SED** (Dieta-Dieta-Sedentário), **CAF-PAD-SED** (Dieta-Modificação Alimentar-Sedentário), **CAF-CAF+EX** (Dieta-Dieta+Exercício) e **CAF-PAD+EX** (Dieta-Modificação Alimentar+Exercício). ANOVA de uma via com pós teste Newman-Keuls. Os valores são média \pm E.P.M. Letras diferentes indicam diferença entre os grupos com $P < 0,05$42

1. INTRODUÇÃO

1.1 Obesidade

A obesidade é considerada uma doença caracterizada pelo acúmulo excessivo de tecido adiposo (WHO, 2007), sendo que aproximadamente 1 bilhão de pessoas no mundo apresentam sobrepeso ou obesidade com altos índices de prevalência em países ricos (Yach et al., 2006). Dados publicados recentemente pelo National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) demonstraram que a prevalência de obesidade entre os adultos americanos era de 31,1% entre 2003—2004 e passou para 33,3% no período 2005-2006 (Ogden et al., 2007), sendo que atualmente estima-se que 33,8% dos adultos americanos apresentem obesidade (Flegal et al., 2010). Embora o número de casos de obesidade seja menor no Brasil, a Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) 2002-2003 demonstrou uma prevalência de 11% de obesidade na população acima de 20 anos em 2003 (IBGE, 2004). Dados mais recentes apontam um aumento na prevalência, pois atualmente estima-se que 13,9% dos adultos brasileiros apresentem obesidade (Brasil, 2010). Além de afetar um número considerável de adultos, a obesidade tornou-se uma doença que também atinge crianças e adolescentes, sendo que no período 2007-2008 dados apresentados pelo NHANES mostraram que 17,6% das crianças e adolescentes de 2 a 19 anos estavam obesos nos Estados Unidos (Ogden et al., 2010). Embora no Brasil a obesidade ainda não tenha alcançado o percentual americano, a POF 2008-2009 apontou que 4,9% dos adolescentes entre 10 e 19 anos estavam obesos e 20,5% estavam com sobrepeso (IBGE, 2010). Em estudos epidemiológicos e também na prática clínica, o conteúdo de tecido adiposo que caracteriza a obesidade pode ser avaliado de forma indireta em indivíduos adultos por meio do Índice de Massa Corporal (IMC), um indicador que utiliza o peso corporal em quilogramas dividido pelo quadrado da altura. Em adultos, um IMC igual ou superior a 30 kg/m² caracteriza o indivíduo como obeso, podendo ainda esta definição ser subdividida em obesidade grau I (IMC ≥ 30 e ≤ 34,9 kg/m²), grau II (IMC ≥ 35 e ≤ 39,9 kg/m²) e obesidade grau III (IMC > 40 kg/m²) (WHO, 1998). Por outro lado, pessoas que apresentam um IMC entre 18,5 e 24,9 kg/m² e dentro do intervalo de 25-29,9 kg/m² são considerados saudáveis e com sobrepeso, respectivamente (WHO, 1998).

1.2 Mudanças no estilo vida e Obesidade

O grande número de casos de obesidade, principalmente nos Estados Unidos, parece ser o resultado de mudanças nos alimentos, nos hábitos alimentares e nos níveis de atividade física. Nas últimas décadas as avaliações de dados de ingestão alimentar demonstraram que a população americana apresentou um aumento na ingestão de energia (CDC, 2004; Putnam, 1999). Dados recentes apontam que desde 1970 a indústria alimentícia vem realizando modificações nos alimentos, resultando no aumento gradativo nos tamanhos das porções de alimentos comercializados em supermercados, “fast-foods” e restaurantes (Young & Nestle, 2002). Esse aumento no tamanho das porções também foi acompanhado por um aumento no consumo de alimentos e ingestão energética em casa, restaurantes e “fast-foods” no mesmo período (Nielsen et. al., 2002). Em estudos populacionais, a associação da densidade energética da alimentação, ou seja a quantidade de energia por grama de alimento, com o peso corporal, mostrou que adultos de peso adequado reportam um consumo alimentar de menor densidade energética comparados a indivíduos obesos (Ledikwe et. al., 2006), assim como a densidade energética foi associada com o ganho de peso ao longo de um ano (Bes-Rastrollo et. al., 2008). Alguns trabalhos propõem que a densidade energética dos alimentos pode influenciar a ingestão de energia (Stubs et. al., 2000).

A frequência de realização das refeições em “fast-foods” tem sido associada de forma positiva com maiores níveis de IMC e do risco de ganho de peso em adultos (Schröder et al., 2007; Pereira et. al., 2005). Em restaurantes “fast-food” e em outros locais fora de casa os alimentos tendem a possuir maiores valores energéticos e maiores quantidades de lipídeos do que os alimentos consumidos em casa (Lin & Frazão, 1999; Lin & Frazão, 1997). Aqueles que se alimentam em “fast-food” apresentam uma maior ingestão de lipídeos, gordura saturada, carboidratos totais, carboidratos refinados (Bowman et. al., 2004; Paeratakul et. al., 2003) e sódio (Paeratakul et. al., 2003) comparados aos que não frequentam “fast-food”. Além disso, a alimentação em “fast-foods” é caracterizada por baixo consumo de frutas, cereais e vegetais, assim como um alto consumo de carnes, batata frita, refrigerantes e bebidas adoçadas (Bowman et. al., 2004; Paeratakul et. al., 2003; Schröder et al., 2007). A proporção de gastos do orçamento familiar com alimentação fora de casa nos EUA passou de 34% em 1972 (Lin & Frazão, 1999) para 49% em 2004 (Stewart et. al., 2006). No mesmo período nos EUA, os gastos em consumo somente em restaurantes “fast-food” aumentaram de 21% para 38%, estimando-se que um em cada quatro norte americanos faz suas refeições em

restaurantes “fast-food” diariamente (Schlosser, 2001; USDA,2007). Em estudo que avaliou os motivos pelos quais os frequentadores faziam suas refeições em restaurantes do tipo “fast-food”, foram mencionadas como as principais razões a rapidez com que os alimentos eram feitos, o fácil acesso ao estabelecimento e o sabor dos alimentos (Rydell et al., 2008). Neste mesmo estudo, foi mencionado com menor frequência que em “fast-food” existiam opções de alimentos saudáveis e que estes espaços eram locais de diversão e entretenimento (Rydell et al., 2008).

A avaliação dos dados de ingestão de bebidas pela população americana de 1977 até 2001 mostrou que ao longo dos anos o refrigerante passou a ser a bebida que mais contribuiu para a ingestão energética diária total (Nielsen & Popkin, 2004). Em 1977, o consumo de refrigerante representava 2,8% da ingestão energética diária total, enquanto que em 2001 representou 7%. Na análise prospectiva das participantes do Nurses’ Health Study II, o ganho de peso corporal foi maior entre as mulheres que aumentaram seu consumo para um ou mais de um copo por dia de refrigerante (Schulze et. al., 2004). Além de estar associado ao ganho de peso e ingestão de energia, o consumo de refrigerante também parece estar associado com mudanças nas escolhas alimentares, pois foi associado de forma positiva com a ingestão de alimentos industrializados e de forma negativa com a ingestão de frutas, vegetais, grãos, peixes e frutos do mar, arroz, ovos e batata (Yamada et. al., 2008). Alguns autores sugerem que a epidemia de obesidade observada principalmente nos Estados Unidos pode ter sido o resultado do aumento do consumo de refrigerante (Malik et. al, 2010).

Além disso, as modificações na sociedade moderna que tiveram início na metade do século 20 parecem contribuir para os menores níveis de atividade física e o comportamento sedentário. Em análises retrospectivas, ficou claro que atualmente existem mais carros do que motoristas licenciados nos Estados Unidos (Brownson et. al., 2005). No mesmo estudo, 86% dos percursos urbanos foram realizados de carro, enquanto que apenas 8,6% dos percursos foram realizados a pé. Recentes estimativas populacionais reportam que crianças e adultos americanos despendem em média 54,9% do seu tempo em atividades sedentárias (Matthews et. al., 2008). Os comportamentos sedentários parecem estar associados ao desenvolvimento de sobrepeso e obesidade. Em crianças de 7 a 11 anos, o hábito de assistir televisão e jogar videogame aumentou o risco de futuramente apresentar sobrepeso (17% a 44%) ou de se tornar obeso (10% a 61%) (Tremblay & Willms, 2003). A análise prospectiva das participantes do estudo Nurse’s Health Study mostrou que o aumento em 2 horas por dia no tempo assistindo televisão aumentou em 23% o risco de desenvolver obesidade em mulheres (Hu et al., 2003). O termo sedentário (do Latim *sedere*, “sentar”) é usado para caracterizar os

comportamentos nos quais o gasto de energia é baixo, ou seja, aqueles que variam de 1-1,5 unidade de equivalente metabólico (MET), sendo 1 MET o gasto energético de repouso ou o consumo de oxigênio de 3,5mL/kg/min (Pate et. al., 2008). Atividades como a corrida correspondem a 8 MET, enquanto a caminhada corresponde a 3-4 MET e o ato de assistir televisão, permanecer sentado ou dirigindo correspondem a menos de 1,5 MET (Owen et. al., 2000; Pate et. al., 2008).

O aumento da ingestão de energia parece contribuir de forma importante para o aumento de peso corporal e o desenvolvimento do sobrepeso e a obesidade, pois foi demonstrado que o aumento da ingestão de energia nos EUA, dos anos de 1970 a 2000, foi semelhante ao aumento de peso previsto em crianças e adultos baseado na ingestão energética (Swinburn et. al., 2009). Nesse estudo, por exemplo, o aumento de peso corporal previsto baseado no aumento da ingestão alimentar foi de 4 kg, o que correspondeu exatamente ao aumento de peso observado em crianças. Para adultos, o ganho de peso no mesmo período foi de 8,6 kg, enquanto o ganho de peso previsto a partir do aumento da ingestão de energia foi de 10,8 kg (Swinburn et. al., 2009). No Reino Unido, em estimativas semelhantes concluiu-se que os aumentos da ingestão de energia no período de 1986-2000 foram suficientes para explicar o ganho de peso que ocorreu em mulheres adultas no mesmo espaço de tempo (Scarborough et. al., 2010). Em animais, está bem documentado que a elevada ingestão de energia resulta em aumento do peso corporal (Shafat et al., 2009) com um aumento importante do aumento da massa de tecido adiposo visceral (Sampey et al., 2011). O aumento da massa de tecido adiposo parece ser o resultado de uma hipertrofia nos adipócitos como consequência do aumento da deposição de triglicerídeos (Guilherme et. al., 2008), pois sob condições de elevada ingestão de energia, humanos e camundongos apresentam um aumento na expressão de enzimas que estão envolvidas na síntese de TG nos adipócitos, mantendo assim a alta capacidade para estocar o excesso de TG nestas células (Christianson et. al., 2008; Frayn et. al., 1994).

A ingestão de alimentos ricos em sódio parece estar associada com níveis elevados de pressão arterial. Os resultados do estudo INTERSALT, um estudo epidemiológico global que avaliou as relações entre a ingestão/excreção de sódio e pressão arterial (PA), mostraram haver associação entre o aumento da ingestão de sódio e aumento de PA (Stamler, 1997; Stamler et. al., 1989). Em um ensaio clínico randomizado que empregou uma alimentação com baixa quantidade de sódio e uma com elevada quantidade de sódio por 6 semanas em indivíduos normotensos, foram observados aumentos significativos na PA central medida na

carótida (Starmans-Kool et. al., 2011). Experimentalmente, a ingestão de sódio aumentada causou aumento significativo na PA de ratos usados como modelo animal de *diabetes mellitus* tipo 2 (DM2) (Matsumoto et. al., 2009). Além da implicação sobre a PA, a ingestão de sódio elevada também parece estar relacionada com outras doenças como aterosclerose, acidente vascular cerebral, doença renal e osteoporose (MacGregor & De Wardener, 1998; Devine et. al., 1995; Woolfson & De Wardener, 1996). O aumento da ingestão de sódio pode afetar os níveis de pressão arterial pelo aumento do volume extracelular, causando aumento da contratilidade cardíaca e vasoconstrição (Rodríguez-Iturbe, 2007). Parte desse efeito é resultado da liberação de componentes endógenos semelhantes à uobaína (EO) que parcialmente inibem a Na/K-ATPase, levando a pequenos aumentos nas concentrações de Na⁺ citosólico e afetando o trocador Na⁺/Ca²⁺, permitindo um ganho citosólico de Ca²⁺. Como resultado, pode ocorrer maior contratilidade cardíaca e vasoconstrição dos vasos de resistência aumentando assim a PA (Blaustein et. al., 2006).

O consumo de gordura saturada parece representar um problema para o sistema cardiocirculatório em humanos, pois foi associado positivamente com o desenvolvimento de doença coronariana em homens residentes na ilha havaiana de Honolulu, durante um período de 10 anos de acompanhamento (McGee et. al., 1984). Em estudo prospectivo que avaliou 42.504 homens, a ingestão de gordura total e de gordura saturada foi associada também com um maior risco de desenvolvimento de DM2 (van Dam et. al., 2002). Porém, enfoques mais específicos têm avaliado a participação de classes de ácidos graxos saturados sobre desfechos metabólicos ao invés da ingestão de gordura total ou saturada. Especificamente, ácidos graxos saturados com 12-16 átomos de carbono tendem a aumentar as concentrações plasmáticas de colesterol total (CT) e as concentrações plasmáticas de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) (Kris-Etherton & Yu, 1997)

A ingestão de carboidratos refinados e de elevado índice glicêmico representa uma característica da alimentação moderna em humanos, a qual se associa de forma importante à prevalência de DM2. Em estudo conduzido durante o período de 1909 a 1997 nos EUA, o aumento da ingestão de carboidratos refinados, principalmente pelo aumento da ingestão alimentar de xarope de milho com alta concentração de frutose (inglês: “High Fructose Corn Syrup (HFCS”)), foi associado com o aumento na prevalência de casos de DM2 (Gross et. al., 2004). Em mulheres japonesas, a avaliação do índice glicêmico da alimentação, uma forma proposta de caracterizar os carboidratos contidos nos alimentos em relação à resposta glicêmica que produzem (Foster-Powell & Miller, 1995), mostrou que a ingestão de uma

alimentação de alto índice glicêmico está associada ao maior risco de morte por acidente cerebral vascular no período de 1992-1999 (Oba et. al., 2010). Em ratos, a ingestão de solução contendo sacarose, considerada um alimento de elevado índice glicêmico, resultou em hipertensão, hiperinsulinemia e dislipidemia após 21 semanas de ingestão (Aguilera et. al., 2004).

1.3 Doenças associadas à obesidade

O acúmulo excessivo de tecido adiposo que caracteriza a obesidade é considerado um fator de risco importante para o desenvolvimento de doenças como o *diabetes mellitus* tipo 2 (DM2) (Chan et. al., 1994; Colditz et. al., 1995) e também para a piora da função reprodutiva em mulheres (Pasquali et. al., 2003). Alterações no perfil lipídico, como aumento dos triglicerídeos plasmáticos (TG), diminuição das concentrações de lipoproteínas de alta-densidade (HDL) e aumento das concentrações plasmáticas de lipoproteínas de baixa-densidade (LDL), também estão associadas com a obesidade (Franssen et. al., 2008). Estudos longitudinais apontam que o ganho de peso também está associado com aumentos de pressão arterial sistólica (PAS) e a incidência de hipertensão arterial sistêmica (HAS). No Framingham Heart Study, um ganho de peso de 5% foi associado com um aumento de 20-30% na incidência de HAS (Vassan, 2001). No estudo Harvard Male Alumni, um aumento de peso de 11 quilos foi associado com um aumento de 60% de casos de HAS (Paffenbarger, 1983). Além de estar associada ao surgimento de doenças, a obesidade está relacionada com o excesso de mortalidade decorrente de doenças cardiovasculares (DCV), cânceres, principalmente câncer de cólon, mama, esôfago, útero, ovários, rins e pâncreas, DM2 e doença renal (Flegal et al., 2007). Recentemente, a presença de obesidade central ou IMC >30 kg/m² como condição essencial, e dois ou mais dos seguintes critérios: hipertrigliceridemia, HDL-C baixo, HAS e glicemia de jejum alterada ou diagnóstico prévio de DM2, tem sido caracterizada como síndrome metabólica, um fator de risco para doenças cardiovasculares, DM2 (Alberti et. al, 2006) e esteatose hepática não alcoólica (Watanabe et. al., 2008).

A incidência global de DM2 está estimada em 350 milhões de casos para 2030, sendo que em 2007 os gastos com o manejo da doença nos EUA foi de 174 bilhões de dólares (Wild et. al., 2004; ADA, 2010). Dois eventos críticos no curso do desenvolvimento do DM2 estão relacionados com a obesidade. O primeiro deles é a resistência insulínica, a qual se

correlaciona ao peso corporal tanto em humanos quanto animais, uma vez que a perda de peso e o ganho de peso estão associados com a diminuição e o aumento da resistência à insulina, respectivamente (Sims et. al., 1973; Freidenberg et. al., 1988). Parte da resistência insulínica observada na obesidade parece ser o resultado da menor captação de glicose nos adipócitos (Garcia-Diaz et al., 2011), assim como no músculo esquelético (Sims et. al., 1973; Freidenberg et. al., 1988). Em indivíduos com resistência à insulina que ainda não progrediram para o DM2, manutenção das concentrações plasmáticas de glicose de jejum dentro das faixas normais é obtida por um aumento compensatório na secreção de insulina pelas células β -pancreáticas, o que parece contribuir para a falência da glândula e para o estabelecimento do quadro de DM2 (Kahn, 2003; Butler et. al., 2003; Rhodes, 2005). Em indivíduos com DM2, o quadro clínico parece se estabelecer quando as células β -pancreáticas respondem de forma inadequada ao progressivo aumento da resistência à insulina que tipicamente ocorre com o avançar da idade, a inatividade e o ganho de peso (Stumvoll et. al., 2008).

O sobrepeso e a obesidade também parecem afetar a função reprodutiva em mulheres, pois um baixo peso ($IMC < 18,5 \text{ kg/m}^2$), assim como sobrepeso ($IMC > 25 \text{ kg/m}^2$) e obesidade ($IMC > 30 \text{ kg/m}^2$) estão relacionados com um risco aumentado de infertilidade de origem anovulatória (Rich-Edwards et al., 2002). Mulheres com obesidade severa apresentam maior frequência de tratamentos para infertilidade e maior tempo de espera para engravidar do que mulheres de peso normal, além de seus filhos terem um maior risco de serem crianças obesas (Nohr et al., 2009). A síndrome dos ovários policísticos (SOPC), caracterizada por sintomas ginecológicos e endócrinos, incluindo anovulação crônica e hiperandrogenismo (The Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS consensus workshop group, 2004), é uma das causas mais comuns de anovulação e infertilidade endócrina (Galtier-Dereure et al., 1997). Das mulheres que apresentam SOPC, aproximadamente 50% delas são obesas ou têm sobrepeso (Pasquali et al., 1993), com a história de ganho de peso frequentemente precedendo o início da oligomenorréia e do hiperandrogenismo. Em estudos de associação de vários fatores, mulheres obesas são mais propensas a apresentarem irregularidades menstruais do que mulheres de peso normal (Wei et al., 2009). Elas apresentam uma probabilidade de terem ciclos menstruais irregulares duas vezes maior em um $IMC < 20 \text{ kg/m}^2$ e em um $IMC > 30 \text{ kg/m}^2$ do que mulheres que situam-se entre o $IMC > 20$ e $< 25 \text{ kg/m}^2$, sendo que o risco de ciclos menstruais irregulares aumenta a partir do momento em que estas mulheres estão com sobrepeso (Wei et al., 2009). Esses ciclos irregulares incluem tanto ciclos menores que 21 dias, chamado de polimenorréia e ciclos maiores que 35 dias, chamado de oligomenorréia,

quanto uma diferença maior que 15 dias entre ciclos mais longos e ciclos mais curtos (Wei et al., 2009).

1.4 Obesidade e o tecido adiposo visceral

A caracterização da obesidade por meio do IMC é um meio muito utilizado em estudos epidemiológicos e também na prática clínica e reflete de forma geral a deposição da gordura corporal. Recentemente, a deposição da gordura corporal na região intra-abdominal passou a ser mais importante para o entendimento das desordens metabólicas relacionadas à obesidade do que propriamente a deposição geral de gordura corporal (Wang et. al., 2005; Seidell et. al., 2001). Este tecido adiposo visceral localizado na região peritoneal representa 10-20% da gordura total em homens magros e obesos e 5-10% da gordura total em mulheres magras ou obesas, sendo que a maior parte é formada pelo depósito mesentérico e omental, Por outro lado, o tecido adiposo subcutâneo representa aproximadamente 80% da massa adiposa corporal (Lafontan & Girard, 2008).

O tecido adiposo é composto por um grande número de adipócitos, mas em geral os adipócitos do tecido adiposo visceral são menores do que os adipócitos do tecido subcutâneo, tanto em homens como em mulheres, embora esta diferença não seja encontrada em homens obesos, mas persiste em mulheres obesas. Além dos adipócitos maduros o tecido adiposo visceral contém uma elevada população heterogênea de células que constituem a fração celular do estroma vascular do tecido adiposo (pré-adipócitos, células endoteliais microvasculares, mastócitos, fibroblastos, leucócitos, granulócitos, células progenitoras de origem da medula óssea e monócitos/macrófagos), sendo que os macrófagos são mais abundantes no tecido adiposo visceral que no tecido adiposo subcutâneo (Curat et. al., 2006; Bornstein et. al., 2000; Curat et. al., 2006; Canello et. al., 2006). Durante o desenvolvimento da obesidade, o tecido adiposo sofre uma extensa remodelação celular que é dependente de uma coordenada relação entre a hipertrofia, hiperplasia e angiogênese nos adipócitos (Hausman et. al., 2001; Smas & Sul, 1995; Rosen, 2002; Gregoire, 2001). Antigamente, acreditava-se que o aumento da massa de tecido adiposo era atribuído exclusivamente à hipertrofia dos adipócitos, como resultado de um aumento das células adiposas pré-existentes devido ao aumento do acúmulo de TG resultante do balanço energético positivo (Hirsch & Batchelor, 1975). Porém, sabe-se atualmente que a obesidade está associada com o aumento do número e tamanho dos adipócitos (Hausman et. al., 2001), sendo que a hipertrofia

frequentemente precede a hiperplasia. Na hiperplasia, novas células adiposas são originadas a partir de células precursoras chamadas de pré-adipócitos (Hausman et. al., 2001), as quais após serem recrutadas e sofrerem proliferação, diferenciam-se e se tornam células adiposas maduras funcionais (Fajas, 2003). Embora evidências obtidas a partir de linhagem murina de células indiquem que a proliferação dos adipócitos ocorre antes da diferenciação (Cornelius et. al., 1994; Smyth et. al., 1993), estudos que utilizaram pré-adipócitos humanos mostraram que células parcialmente diferenciadas ainda são capazes de se replicar para formar novos adipócitos (Prins, 1997).

Atualmente, o tecido adiposo é reconhecido por ser um órgão endócrino que secreta um número considerável de moléculas as quais regulam uma série de processos fisiológicos incluindo homeostase energética (apetite, termogênese, comportamento alimentar), respostas inflamatórias, angiogênese, pressão arterial e função reprodutiva (Trayhurn, 2005; Sethi & Vidal-Puig, 2007). Entre esses produtos, está o Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF- α) sintetizado como um monômero transmembrana com peso molecular de 26-kDa (Kriegle et. al., 1988) que após sofrer clivagem proteolítica pela enzima conversora de TNF- α forma uma molécula de TNF- α solúvel com peso molecular de 17-kDa (Black et. al., 1997). Produzido pelo tecido adiposo tanto nos adipócitos como nas células da matriz tecidual (Weisberg et. al., 2003, Fain et. al., 2004), o TNF- α provavelmente exibe efeito primariamente parácrino (Mohamed-Ali et. al., 1997, Lofgren et. al., 2000), embora o tecido adiposo também contribua para o *pool* circulante. Inicialmente, os adipócitos foram considerados a fonte predominante de TNF- α do tecido adiposo, porém, estudos recentes mostraram que os pré-adipócitos, células endoteliais, células do músculo liso, fibroblastos, leucócitos e macrófagos, os quais estão presentes no tecido adiposo, assim como na fração celular vascular do estroma do tecido adiposo, podem produzir mais TNF- α que os adipócitos (Fain et. al., 2004; Weisberget. al., 2003). Estudos sobre a ação do TNF-alfa mediando a resistência à insulina em cultura de células assim com em organismos intactos, têm demonstrado que o TNF-alfa induz a resistência à insulina, ao menos em parte, através da sua habilidade de inibir a sinalização intracelular do receptor de insulina (Feinstein et. al., 1993, Hotamisligil et. al., 1994). O mecanismo molecular pelo qual o TNF- α contribui para a resistência insulínica envolve a fosforilação excessiva da quinase regulada por sinal extracelular (ERK-1/2) e a da quinase c-jun NH₂-terminal (JNK), juntamente com o aumento da fosforilação da serina e diminuição da fosforilação da tirosina do substrato do receptor de insulina-1 (IRS-1), além da indução do fator de transcrição NF- κ B (Cawthorn & Sethi, 2008).

1.5 Modelos de obesidade em animais: Dieta de Cafeteria

O uso de modelos animais na pesquisa científica usualmente objetiva reproduzir experimentalmente e de forma controlada uma série de doenças que acometem os seres humanos, uma vez que estudos controlados e de longo prazo com humanos são difíceis de serem realizados. Frente à grande prevalência de obesidade no mundo (Yach et. al., 2006), o uso de modelos animais que reproduzem as características de humanosobesos é de extrema importância tanto para elucidar os mecanismos fisiopatológicos quanto para a busca de tratamentos preventivos e curativos para a obesidade.

Em modelos animais de obesidade, a característica comumente observada entre eles é o aumento da ingestão energética pelo aumento da ingestão alimentar. Para causar esse aumento na ingestão alimentar, alguns modelos empregam a técnica de lesão de áreas hipotalâmicas envolvidas no controle da ingestão alimentar, como a região ventromedial do hipotálamo, por meio de estimulação elétrica (Shimizu et. al., 2003) ou lesionam a região ventromedial e o núcleo arqueado hipotalâmico por meio de aplicação intraperitoneal de glutamato monossódico durante o período neonatal (Nakagawa et. al. 2000). De outra forma, outros modelos de obesidade utilizam ratos que apresentam mutação genética no receptor de leptina, conhecidos com “obese Zucker rats” que também apresentam hiperfagia e obesidade, além de complicações metabólicas como resistência insulínica (Aleixandre de Artiñano & Miguel Castro, 2009). Outros modelos denominados de “high-fat diet” utilizam ração modificada contendo alta concentração de lipídeos e densidade energética aumentada comparada à ração padrão de biotério, resultando em animais obesos por maior ingestão de energia (Kennedy et. al., 2010). Entre todos os métodos de produzir obesidade em ratos, o modelo animal que parece representar da forma mais fiel as causas da obesidade é o modelo de dieta de cafeteria, o qual utiliza alimentos consumidos por humanos em adição à ração padrão de biotério e resulta em obesidade por aumento da ingestão energética (Sclafani & Springer, 1976; Rothwell & Stock, 1979), além de complicações metabólicas como resistência insulínica (Sampey et al., 2011).

A dieta de cafeteria consiste em um modelo animal de obesidade que reflete de forma mais aproximada a variedade de alimentos altamente palatáveis, densos em energia, ricos em sódio e gordura saturada e pobres em fibras que prevalecem como padrão alimentar em muitos países e estão associados com a epidemia de obesidade. Os alimentos empregados em adição à ração padrão de biotério no modelo animal de dieta de cafeteria variam entre os

estudos, mas observa-se a utilização de pão branco, queijo, chocolate, gordura animal, pipoca, cubos de açúcar, marmelada, salame, presunto, marshmallow, entre outros (Shafat et al.,2009). Em relação ao número de alimentos utilizados, também existem variações entre os experimentos, sendo que alguns autores descrevem o emprego de 2 itens alimentares diferentes a cada dia dentro de uma relação de 10 possibilidades alimentares (Bailey et al.,1986), enquanto outros oferecem 12 itens diariamente, sem nenhuma variação (Prats et al., 1989).

A exposição à dieta de cafeteria em animais pode ter início 7 dias após o parto (Dameto et. al.,1994), aos 21 dias de idade (idade normal de desmame) (Prats et. al., 1987) ou quando adultos (Rothwell & Stock, 1979). Em geral, a duração do modelo de dieta de cafeteria varia entre 3 e 8 semanas, embora duração maior que 5 meses tenha sido descrita (De Schepper et. al., 1998). Entre as consequências do acesso *ad libitum* aos alimentos hipercalóricos e ricos em carboidratos refinados e gordura saturada estão um padrão alimentar hiperfágico e hipercalórico pelo maior consumo de gordura e carboidratos (Shafat et al.,2009), ganho de peso corporal (Gianoti et al., 1988) e aumento excessivo da massa de tecido adiposo (Scoaris et al., 2010). Alterações metabólicas como intolerância à glicose, resistência à insulina e hiperinsulinemia são também observadas nos animais expostos aos alimentos palatáveis (Sampey et al.,2011).

1.6 Tratamento da obesidade

A redução de aproximadamente 10% do peso corporal em indivíduos obesos e com sobrepeso está associada com a redução do risco de desenvolvimento de DCV (NHI, 1998) e DM2 (Orzano & Scott, 2004). Porém, um dos maiores problemas enfrentado pelos indivíduos engajados no tratamento da obesidade é o novo ganho de peso dentro de meses a anos após o fim do tratamento (Kramer et al., 1989, Stunkard & McLaren-Hume, 1959, Weis et. al., 2007). Geralmente, a maioria dos pacientes que perderam peso ao longo do tratamento com mudanças do estilo de vida restabelecem 30 a 35% do peso perdido um ano após o fim do tratamento e praticamente todo o peso perdido dentro de 5 anos após o fim do tratamento (Wadden et al., 2004, Anderson et al., 2001, Jeffery et al., 2001). Entre as intervenções mais utilizadas para tratar e prevenir a obesidade e doenças associadas estão as modificações alimentares e a prática de exercício físico (Galani & Schneider, 2007).

1.6.1 Modificações Alimentares

As contribuições relativas do aumento da ingestão de energia e da redução da atividade física para a obesidade têm sido amplamente debatidas (Prentice & Jebb 1995; Cutler et. al., 2003; Philipson, 2001). Evidências científicas indicam que todos os animais adultos, incluindo os humanos, possuem sistemas biológicos que regulam a ingestão e o gasto de energia para alcançar o equilíbrio do balanço energético e manter o peso corporal estável (Hill, 2006). No estado de repouso, a equação do balanço energético indica que a ingestão energética se equilibra com o gasto de energia, resultando na manutenção do peso corporal, enquanto que um balanço positivo tende a aumentar o peso corporal (Sorensen, 2009). Os guias para o manejo da obesidade enfatizam a redução da ingestão energética para promover um balanço energético negativo e promover a perda de peso, assim como recomendam discutir com o paciente possíveis mudanças no padrão alimentar, enfatizando a redução da ingestão de alimentos densos em energia (incluindo alimentos contendo gordura animal, alimentos ricos em lipídeos, doces e refrigerante) e o aumento da ingestão de alimentos de baixa densidade energética (como grãos integrais, cereais, frutas, vegetais e saladas), assim como reduzir o consumo de “fast-foods” e álcool (Logue et. al., 2010).

A implementação de modificações alimentares com ou sem redução da ingestão energética em combinação com aumento do consumo de frutas, vegetais, nozes, grãos integrais e o aumento no consumo de óleo de oliva, um padrão alimentar conhecido por dieta do Mediterrâneo, resultou em uma diminuição significativa de peso corporal em sujeitos obesos e com sobrepeso após 2 anos de tratamento comparados a indivíduos que apenas receberam aconselhamento sobre a dieta do Mediterrâneo (Esposito et. al., 2011). Com base na recomendação da American Heart Association (Redman et. al., 2007), o déficit de energia de 25% por meio de restrição calórica sem exercício (redução da ingestão energética em 25% da necessidade diária) e com exercício (12,5% de redução da ingestão de energia e 12,5% de gasto energético pelo exercício) por 6 meses foi capaz de reduzir de forma equivalente o percentual de gordura corporal, o percentual de tecido adiposo visceral e do tecido adiposo subcutâneo. Outra abordagem alimentar conhecida como dieta Paleolítica que não preconiza a restrição da ingestão energética, mas sim a ingestão *ad libitum* de alimentos tais como nozes, vegetais, frutas, carnes magras, peixe e ovos também tem sido atualmente proposta como forma efetiva de reduzir a ingestão energética, uma vez que tal prática foi capaz de aumentar a sensação de saciedade e promover menor ingestão energética (Jönsson et. al., 2010), além de

causar uma redução da circunferência da cintura (Lindeberg et. al., 2007), um indicador de deposição de gordura abdominal. Outros benefícios além da redução de peso corporal são observados em indivíduos submetidos à modificação da ingestão alimentar, como redução das concentrações plasmáticas de insulina, glicose, CT, e diminuição da PA e aumento da concentração plasmática de adiponectina (Esposito et. al., 2011), conhecido fator de proteção contra aterosclerose e resistência insulínica (Bodary & Eitzman, 2006).

O novo ganho de peso, com o fim da restrição calórica a longo prazo é o principal desafio das intervenções que restringem a ingestão de energia (Weiss et al., 2007). Essa dificuldade em manter o peso perdido após descontinuar a restrição calórica é atribuída aos mecanismos compensatórios que diminuem o gasto energético de repouso e pela menor atividade física durante a restrição calórica (Sullivan & Cameron, 2010). Diferentes mecanismos compensatórios podem contribuir para situações onde ocorre restrição de energia. Camundongos com acesso restrito a 80% da ingestão energética habitual apresentam diminuição dos níveis de atividade física, redução do gasto energético de repouso e redução da deposição de energia no tecido adiposo, apresentando peso corporal semelhante a animais sem restrição de ingestão alimentar (Hambly & Speakman, 2005). Por outro lado, a queda nas concentrações plasmáticas de insulina e leptina durante a restrição calórica (Maffei et. al., 1995; Weigle et. al., 1997) estimulam a via neuronal orexigênica do neuropeptídeo Y (NPY)/proteína relacionada ao Agouti (AgRp) e inibem a via neuronal anorexigênica da proopiomelanocortina (POMC), ambas localizadas no núcleo arqueado (ARC) hipotalâmico. O favorecimento da via orexigênica estimula a ingestão alimentar e contribui para o restabelecimento do peso perdido (Butler et. al., 2001; Chen et. al., 2000; Haynes et. al., 1999; Murphy et. al., 1998; Thiele et. al., 1998).

1.6.2 Exercício Físico

O exercício físico é um hábito saudável que confere benefícios positivos para aqueles que o praticam regularmente (U.S. Department of Health and Human Services, 2008). Em pacientes com câncer, por exemplo, o exercício está associado com menores níveis de ansiedade e depressão (Faul et. al., 2011). Em pacientes com DM2, o exercício físico parece reduzir os níveis de PA (sistólica e diastólica), glicemia de jejum e pós-prandial, perfil lipídico (CT e TG) e proteína C-reativa (Jorge et. al., 2011). Na obesidade, a prática de

exercício físico é recomendada com o objetivo de aumentar o gasto de energia para gerar um balanço energético negativo e auxiliar na perda e manutenção do peso corporal (Jakicic et. al., 2006), assim como para melhorar o perfil metabólico. Um balanço energético negativo pode ser alcançado pelo dispêndio de energia durante o exercício, assim como pelo aumento do gasto energético de repouso e do gasto com os processos de digestão, absorção e metabolização dos alimentos (conhecido como efeito térmico do alimento) (Calles-Escandón & Horton, 1992). Alguns autores sugerem que em adultos sedentários o gasto energético de repouso e o efeito térmico do alimento são relativamente constantes, contribuindo aproximadamente para 60-70% e 10%, respectivamente, para o gasto energético diário total (Tataranni & Ravussin, 2002). Sendo assim, o gasto com o exercício seria a porção do gasto energético diário total mais variável e possível de ser influenciado para a redução do peso corporal.

A outra forma possível do exercício físico atuar sobre o balanço energético é por meio da regulação da ingestão de energia. Em estudo com regimes de exercício de curta duração (2-5 dias) avaliando o efeito sobre o apetite, 19% dos participantes apresentaram aumento da ingestão de energia, 16% diminuíram a ingestão de energia e 65% mantiveram a ingestão de energia após o exercício (King et. al., 1997). Em modelos experimentais, o exercício físico atenua o ganho de peso excessivo de animais submetidos a dietas ricas em gorduras (Wang et. al., 2008; Medeiros et. al., 2011) pela redução na ingestão alimentar em relação aos ratos obesos que não praticaram exercício físico (Wang et. al., 2008). Entretanto, atualmente existe um grande debate sobre os efeitos do exercício em relação ao apetite, sendo que as evidências até o momento apontam para indivíduos que são responsivos ao exercício e possuem uma regulação do apetite, enquanto outros são resistentes ao exercício e compensam o gasto energético do exercício aumentando a ingestão de energia (Hopkins et. al., 2010).

Assim, a obesidade e as complicações metabólicas associadas ao crescimento do tecido adiposo parecem ser o resultado de profundas modificações nos hábitos alimentares e o reflexo de baixos níveis de atividade física, sendo que tanto em humanos quanto em animais as melhores abordagens para o tratamento da obesidade e complicações associadas parecem ser as modificações nos hábitos alimentares e a prática de exercício físico.

2. HIPÓTESE

Considerando que a obesidade está associada a modificações do estilo de vida e mudanças no padrão alimentar, o presente estudo pretende testar a hipótese de que o quadro de obesidade e as alterações metabólicas produzidas pela dieta de cafeteria poderiam ser revertidas com a modificação da alimentação e/ou com o exercício físico.

3. OBJETIVOS

Avaliar os efeitos da administração de dieta de cafeteria desde o desmame sobre a ingestão alimentar, peso corporal, peso dos órgãos, pressão arterial, regularidade do ciclo estral, comportamento sexual, concentrações de glicose plasmática e insulina após 26 semanas.

Avaliar o efeito da modificação alimentar e/ou exercício por 8 semanas sobre os desfechos produzidos pela dieta de cafeteria.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Delineamento

Estudo experimental.

4.2 Animais

Foram utilizadas ratas Wistar (n=79) com 21 dias de idade e recém desmamadas provenientes do biotério central do Instituto de Ciências Básicas da Saúde (ICBS) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), sendo que o uso de animais nesta idade foi devido ao dramático aumento da incidência de obesidade infantil e pelo fato de que as alterações produzidas pela obesidade dependem da duração da exposição à dieta. Os animais foram mantidos em caixas com 4 animais em ambiente com ciclo claro-escuro (luzes acesas às 07:00h e apagadas às 19:00h) e temperatura controlada (24-26 °C). Após a realização dos experimentos, as carcaças foram devidamente embaladas em sacos de lixo branco e encaminhadas para o biotério central para o descarte adequado. Todos os procedimentos com os animais foram realizados de acordo com o Nacional Institute of Health (NIH) “Guia para Cuidados e Uso de Animais de Laboratório” (NIH,1985). O projeto para a realização deste estudo foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da UFRGS, sendo aprovado sob o número 200938.

4.3 Ração Padrão

A ração padrão no presente estudo foi a ração para ratos e camundongos Nuvilab CR-1 (NUVITAL, Brasil) com densidade energética de 2,95 kcal/g e com peso distribuído em 55% de carboidratos, 22% de proteína e 4,5% de lipídeos.

4.4 Dieta de Cafeteria

O modelo da dieta de cafeteria foi reproduzido no presente estudo pela oferta de alimentos industrializados adquiridos no comércio local e de forma adicional à ração padrão e água. Os alimentos foram reunidos em 3 grupos alimentares (grupos A, B e C), sendo que apenas um grupo alimentar foi ofertado por dia aos animais, com exceção do refrigerante que foi oferecido em todos os dias independentemente do grupo alimentar. Para cada grupo alimentar (A, B e C), somente alimentos frescos foram utilizados. Os valores nutricionais de cada alimento foram obtidos a partir dos rótulos ou do site dos fabricantes (**Tabela 1**).

Tabela 1. Grupos alimentares ofertados para os animais em dias alternados.

Alimento	Grupo A					
	Qtd(g)	kcal	Carboidratos (g)	Proteínas (g)	Lipídeos (g)	Na (mg)
Ração Padrão	1,00	2,95	0,55	0,22	0,04	2,70
Salame (Majestade, Brasil)	1,00	3,38	0,00	0,32	0,24	12,48
Bisnaguinha Seven Boys (Seven Boys, Brasil)	1,00	2,95	0,53	0,09	0,04	4,70
Yokitos bolinha sabor queijo (Yoki, Brasil)	1,00	4,80	0,60	0,06	0,24	11,04
Deliket Jelly Bean (Dori Alimentos, Brasil)	1,00	3,80	0,95	0,00	0,00	0,20
Coca-Cola (Coca-Cola, Brasil)	1,00	0,43	0,11	0,00	0,00	0,05
Grupo B						
Ração Padrão	1,00	2,95	0,55	0,22	0,04	2,70
Lingüiça Fininha defumada (Perdigão, Brasil)	1,00	3,18	0,01	0,18	0,32	15,73
Bolo de chocolate (Nutrella, Brasil)	1,00	3,25	0,50	0,05	0,12	6,18
Biscoito Maizena (Isabela, Brasil)	1,00	4,30	0,73	0,07	0,12	4,33
Marshmallow (Fini, Brasil)	1,00	3,40	0,80	0,05	0,00	0,46
Coca-Cola (Coca-Cola, Brasil)	1,00	0,43	0,11	0,00	0,00	0,05
Grupo C						
Ração Padrão	1,00	2,95	0,55	0,22	0,04	2,70
Presunto com capa de gordura (Sadia, Brasil)	1,00	1,55	0,00	0,17	0,09	8,33
Salgadinho Fritello (Pavioli, Brasil)	1,00	5,08	0,52	0,08	0,29	6,40
Biscoito Waffêr de Chocolate (Bauducco, Brasil)	1,00	5,20	0,63	0,05	0,27	1,13
Bala de goma Gomets (Dori Alimentos, Brasil)	1,00	3,60	0,90	0,00	0,00	0,50
Coca-Cola (Coca-Cola, Brasil)	1,00	0,43	0,11	0,00	0,00	0,05

Dados obtidos dos rótulos dos produtos ou do site dos fabricantes.

4.5 Grupos Experimentais

4.5.1 Experimento 1: *Efeito da dieta de cafeteria desde o desmame sobre a ingestão alimentar, peso corporal, peso dos órgãos, pressão arterial, regularidade do ciclo estral, comportamento sexual, concentrações de glicose plasmática e insulina após 26 semanas.*

Os animais foram divididos em 2 grupos:

Grupo Controle (PAD, n=12): os animais receberam ração padrão e água *ad libitum* por 26 semanas.

Grupo Dieta (CAF, n=12): os animais receberam dieta de cafeteria *ad libitum* em adição à ração padrão e água por 26 semanas.

4.5.2 Experimento 2: *Efeito da modificação alimentar e/ou exercício por 8 semanas sobre os desfechos produzidos pela dieta de cafeteria.*

Os animais foram divididos em 5 grupos:

Grupo Controle-Controle-Sedentário (PAD-PAD-SED, n=12): os animais receberam ração padrão e água *ad libitum* por 8 semanas, após acesso prévio de 26 semanas à ração padrão e água *ad libitum*.

Grupo Dieta-Dieta-Sedentário (CAF-CAF-SED, n=12): os animais receberam dieta de cafeteria *ad libitum* em adição à ração padrão e água por 8 semanas, após acesso prévio *ad libitum* de 26 semanas à dieta de cafeteria em adição à ração padrão e água.

Grupo Dieta-Modificação Alimentar-Sedentário (CAF-PAD-SED, n=12): os animais receberam ração padrão e água *ad libitum* por 8 semanas, após acesso prévio *ad libitum* de 26 semanas à dieta de cafeteria em adição à ração padrão e água.

Grupo Dieta-Dieta+Exercício (CAF-CAF+EX, n=12): os animais receberam dieta de cafeteria *ad libitum* em adição à ração padrão e água e foram submetidos ao protocolo de exercício físico por 8 semanas, após acesso prévio *ad libitum* de 26 semanas à dieta de cafeteria em adição à ração padrão e água.

Grupo Dieta-Modificação Alimentar+Exercício (CAF-PAD+EX, n=12): os animais receberam ração padrão e água *ad libitum* e foram submetidos ao protocolo de exercício físico por 8 semanas, após acesso prévio *ad libitum* de 26 semanas à dieta de cafeteria em adição à ração padrão e água.

4.6 Avaliação da ingestão alimentar

A avaliação da ingestão alimentar foi realizada por meio da pesagem diária de cada alimento. Para determinação do peso de cada alimento utilizou-se balança semianalítica (Shimadzu BL3200) e para determinação do volume de cada líquido utilizou-se uma proveta. As quantidades de alimento ingerido pelos animais foram determinadas diminuindo-se do peso ou volume colocado inicialmente o peso ou o volume restante após 24 horas. A partir dos dados de peso e volume ingeridos de cada alimento e das informações nutricionais constantes nos rótulos dos produtos, foi possível quantificar a ingestão energética total (kcal), a ingestão de carboidratos (g), a ingestão de proteínas (g), a ingestão de lipídeos(g) e a ingestão de sódio (mg). Os dados diários obtidos para cada alimento foram somados gerando o consumo total por dia. Este consumo total por dia foi dividido pelo número de animais de cada grupo, resultando na ingestão por animal por dia. Posteriormente, os dados por animal por dia foram agrupados por semana, gerando como resultado um consumo médio por animal por dia por semana.

4.7 Peso Corporal

Os animais foram pesados em dias alternados em balança semianalítica (Shimadzu BL3200) e o peso representado em gramas. Os pesos obtidos foram avaliados como média de peso corporal semanal em cada grupo.

4.8 Ciclo Estral

A partir do 70º dia, foi realizado diariamente entre 08:00 e 10:00 o esfregaço vaginal das fêmeas para a determinação das fases do ciclo estral por meio da característica celular observada. Nos animais do experimento1 os ciclos estrais foram analisados no período da 7ª à 26ª semana, enquanto no experimento 2 os ciclos estrais foram analisados no período da 29ª à 34ª semana. Inicialmente, o epitélio vaginal da fêmea foi “lavado” com auxílio de um conta-

gotas contendo solução salina (NaCl 0,9%) e o material coletado foi analisado a fresco em microscópio óptico. O esfregaço foi classificado de acordo com as fases do ciclo, da seguinte maneira: proestro quando ao microscópio havia predominância de células epiteliais com núcleo bem definido; estro, quando havia predominância de células epiteliais cornificadas sem núcleo; metaestro, quando havia uma mistura de células epiteliais cornificadas e leucócitos; diestro quando havia predominância de leucócitos (Long & Evans, 1922; Mandl, 1951). Foi determinado que um ciclo estral completo seria de um proestro até o próximo proestro. Os dados obtidos foram utilizados para avaliação da regularidade do ciclo estral caracterizada pelo número de ciclos num determinado período, duração média do ciclo e a duração média de cada fase dentro do ciclo.

4.9 Registro de Pressão Arterial

As mensurações da PAS foram realizadas pelo método indireto de pletismografia caudal, utilizando-se o sistema Kent Scientific (RTBP 1001 Rat Tail Blood Pressure System for rat and mice, Litchfield, USA) e o sistema de aquisição de dados WinDaq versão 2.46 (DATAQ Instruments, USA). Inicialmente, os animais foram levados para o ambiente experimental e colocados em contêineres de acrílico (Kant, USA). Após, uma lâmpada infravermelha foi direcionada para a cauda do animal por aproximadamente 15 minutos, quando então uma bolsa pneumática e um transdutor de sinal foram colocados na cauda do animal. Para a determinação da PAS, a bolsa pneumática foi insuflada manualmente até 200 mmHg para obstruir o fluxo sanguíneo na artéria caudal, sendo liberado gradualmente para o retorno do fluxo. O nível de pressão arterial sistólica foi então definido como o primeiro sinal de pulso após a liberação gradual do manguito, sendo detectado pelo software de aquisição de dados. Durante 3 dias este procedimento foi repetido para aclimação dos animais, sendo que as medições realizadas no 4º dia foram consideradas válidas. Para a determinação da pressão arterial sistólica de cada animal, utilizou-se a média de 3-4 medidas no 4º dia ao final do experimento1 e do experimento2.

4.10 Análise do comportamento sexual

O comportamento sexual foi avaliado nas fêmeas durante a fase proestro do ciclo estral para verificação da receptividade sexual. Foram selecionadas aquelas fêmeas que apresentaram um proestro dentro de até 10 dias após o termino de cada experimento. Para avaliação do comportamento sexual de cada fêmea, inicialmente a rata foi colocada em uma caixa de observação (70X70X35 cm) por 10 minutos para ambientação. Logo após, um macho sexualmente ativo foi colocado na caixa, iniciando-se imediatamente a sessão de registro do comportamento sexual. O experimento teve duração de 15 minutos e foi conduzido durante o período escuro do ciclo claro/escuro, entre as 19:30 e as 21:00 h. O registro do comportamento sexual de cada fêmea foi realizado por meio da filmagem dos animais com uma filmadora digital (Sony Dcr-sr45).

Os parâmetros comportamentais analisados foram o número de lordoses, que consistiu no número de vezes que a fêmea elevou a parte traseira do dorso para o macho montar e o número de montas, que foi o número de vezes que o macho usou as patas dianteiras para agarrar a fêmea pelos flancos. Com o auxílio do programa The Observer (Noldus Information Technology, NED), o número de lordoses de cada fêmea e o número de montas do macho em cada fêmea foram quantificados. A divisão do número de lordoses pelo número de montas gerou o índice de lordose, o qual mede a receptividade sexual da fêmea (Sodersten & Hansen, 1977).

4.11 Coleta de Sangue

Ao final de cada experimento, após 12-13 horas de jejum, os animais foram submetidos à decapitação em uma guilhotina. O sangue foi coletado em tubos de ensaio previamente heparinizados e centrifugados a 1609 x g por 15 minutos. Após a centrifugação, o plasma foi separado em alíquotas e estocado à -80 °C até a realização das análises bioquímicas.

4.12 Retirada de órgãos

A retirada dos órgãos se deu imediatamente após a decapitação. Foram retirados o tecido adiposo visceral abdominal, o fígado e os ovários. Todos os órgãos foram pesados em balança semianalítica (Shimadzu BL3200) para determinação do peso em gramas.

4.13 Modificação Alimentar

A modificação alimentar foi realizada em fêmeas com 199 dias de vida que receberam dieta de cafeteria desde o desmame. Esta modificação consistiu na retirada da dieta de cafeteria na 26ª semana, após o longo período de exposição, permanecendo apenas a ração padrão e água *ad libitum* por 8 semanas.

4.14 Exercício Físico

A natação foi a modalidade de exercício físico utilizada no presente estudo e foram utilizadas fêmeas com 199 dias de vida. Para a realização do experimento, lixeiras plásticas com capacidade de 150 litros foram preenchidas com água suficiente para que os animais não conseguissem encostar a cauda no fundo do recipiente. A temperatura da água utilizada foi de 31-33°C, considerada adequada para ratos (McCardle, 1964). Os animais foram colocados em número de 4 por recipiente sem peso adicional anexado ao corpo.

O protocolo de natação teve duração de 8 semanas, consistindo de 4 semanas de adaptação e 4 semanas de treinamento aeróbio, sendo executado 5 vezes por semana durante o ciclo claro (Melton et. al., 2000). O consumo de oxigênio de ratos nesta modalidade parece ser 2,7 vezes o valor do consumo de oxigênio de repouso (McCardle, 1964), sendo considerado um exercício de intensidade moderada para ratos (Baker & Horvath 1964). Para a adaptação dos animais, o primeiro dia de natação teve duração de 5 minutos, com acréscimo de 5 minutos nos dias subsequentes até atingir o tempo de 40 minutos, que permaneceu nesta duração até o final da 3ª semana. Na 4ª semana de adaptação, a duração de cada sessão de

exercício foi aumentada para 60 minutos por dia. Na 5ª semana de exercício físico, a duração de cada sessão passou para 75 minutos e permaneceu assim até o final do protocolo de natação. Após a sessão de treinamento, os animais foram enxugados com toalhas e colocados novamente nas caixas.

4.15 Dosagem plasmática de Insulina

As concentrações plasmáticas de insulina foram determinadas em duplicata pelo método de ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) com reagentes específicos para rato (Millipore, MO, USA) e com sensibilidade de detecção de 0,2ng/mL. Para a análise da resistência à insulina, utilizou-se o índice do Modelo de Acesso Homeostático-Resistência Insulínica (HOMA-IR), por meio do cálculo (Matthews et. al., 1985):

$$\text{HOMA-IR: } \frac{\text{glicemia de jejum (mmol/L)} \times \text{insulinemia de jejum } (\mu\text{U/mL})}{22,5}$$

4.16 Dosagem plasmática de Glicose

As concentrações plasmáticas de glicose foram determinadas pelo método colorimétrico, utilizando-se reagente com sensibilidade de detecção de 0,32mg/dL (Glicose PAP Liquiform, Labtest, Brasil).

4.17 Análise Estatística

Os dados foram analisados com o auxílio do software estatístico GraphPad Prism 5.04 (GraphPad Software, CA, USA). Para comparação de uma variável entre dois grupos, utilizou-se o teste estatístico t de Student. Para a avaliação dos efeitos do tempo e tratamento

sobre determinada variável nos grupos e entre os grupos, assim como a interação entre tempo e tratamento sobre a variável estudada, utilizou-se o teste de análise de variância (ANOVA) de duas vias de medidas repetidas com pós-teste de Bonferroni. Para análises onde se comparou uma variável entre mais de um grupo, utilizou-se a análise de variância (ANOVA) de uma via com pós-teste de Student Newman-Keuls. Os dados foram apresentados como média \pm erro padrão da média (E.P.M) e as diferenças entre os grupos foram consideradas significativas quando $P < 0,05$.

5. RESULTADOS

5.1 Experimento 1: *Efeito da dieta de cafeteria desde o desmame sobre a ingestão alimentar, peso corporal, peso dos órgãos, pressão arterial, regularidade do ciclo estral, comportamento sexual, concentrações de glicose plasmática e insulina após 26 semanas.*

O experimento 1 teve duração de 26 semanas e foi conduzido com o grupo PAD (animais recebendo ração padrão e água) e um grupo CAF (dieta de cafeteria em adição à ração padrão e água) e teve início imediatamente após o desmame dos animais. Na 26^a semana de experimento a ingestão de ração padrão por animal por dia e a ingestão de água por animal por dia foram significativamente menores no grupo CAF comparadas ao grupo PAD ($p < 0,05$, **Fig. 1.A e B**, respectivamente). A ingestão de líquidos totais (incluindo água e refrigerante) por animal por dia e a ingestão de sódio por animal por dia foram significativamente maiores no grupo CAF comparado ao grupo PAD ($p < 0,05$, **Fig. 1.C e D**, respectivamente). Para o grupo CAF, a principal fonte de sódio foram os sólidos palatáveis que fizeram parte da dieta de cafeteria (**Tabela 2**).

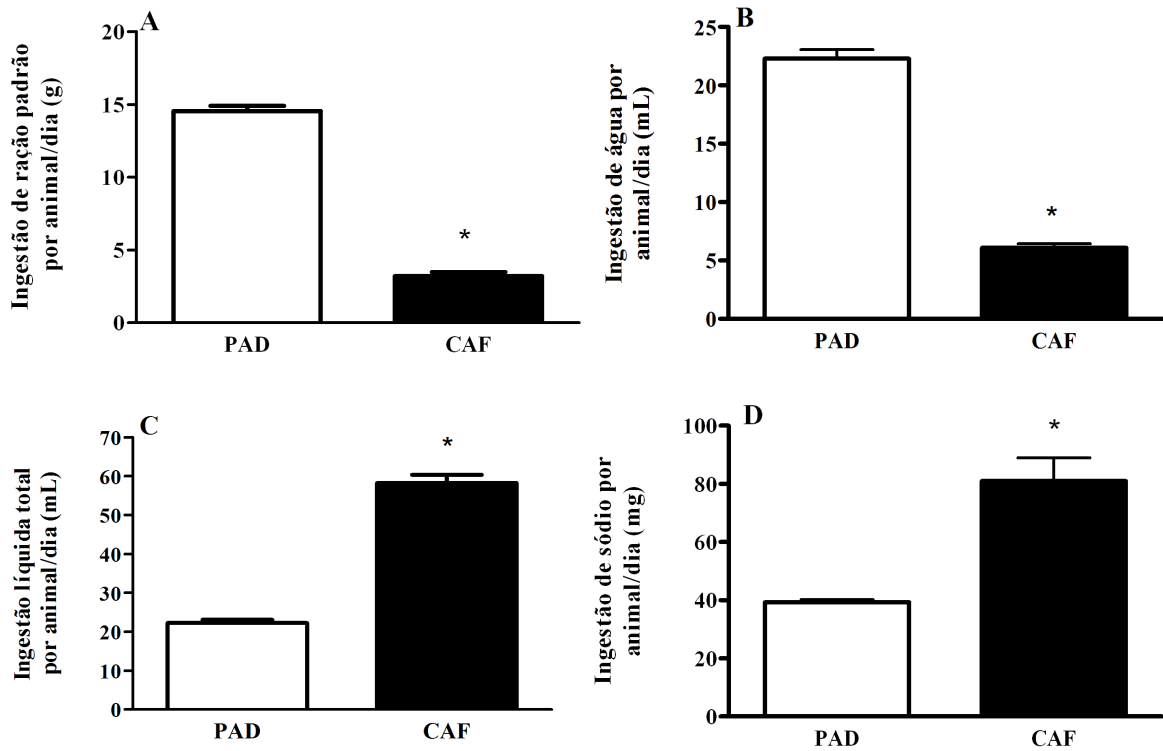


Fig. 1. A. Ingestão de ração padrão por animal/dia, B. Ingestão de água por animal/dia, C. Ingestão líquida total por animal/dia e D. Ingestão de sódio por animal/dia na 26^a semana de experimento. Os valores são média \pm E.P.M. PAD (Controle, n=12) e CAF (Dieta, n=12). *P<0,05. Teste t Student. No grupo PAD líquido total é apenas água e no grupo CAF líquido total é a soma de água e refrigerante.

Tabela 2. Contribuição de cada padrão alimentar consumido para a quantidade de sódio total (mg) ingerida por animal/dia na 26^a semana de experimento em cada grupo.

Grupo	Padrão Alimentar Consumido			Total de sódio ingerido/dia (mg)
	Ração padrão (ingestão de sódio)	Refrigerante (ingestão de sódio)	Sólido palatável (ingestão de sódio)	
PAD	39,33 (mg)	-	-	39,33
CAF	8,68 (mg)	2,61 (mg)	69,68 (mg)	80,97

PAD (Controle); CAF (Cafeteria)

A oferta da dieta de cafeteria em adição à ração padrão e água causou um aumento significativo na ingestão de carboidratos e lipídeos no grupo CAF quando comparado ao grupo PAD ($p < 0,05$, **Fig. 2 A e C**, respectivamente). Em relação à ingestão protéica, a dieta de cafeteria causou uma redução significativa na ingestão de proteína no grupo CAF comparada ao grupo PAD na 26ª semana de experimento ($p < 0,05$, **Fig. 2 B**).

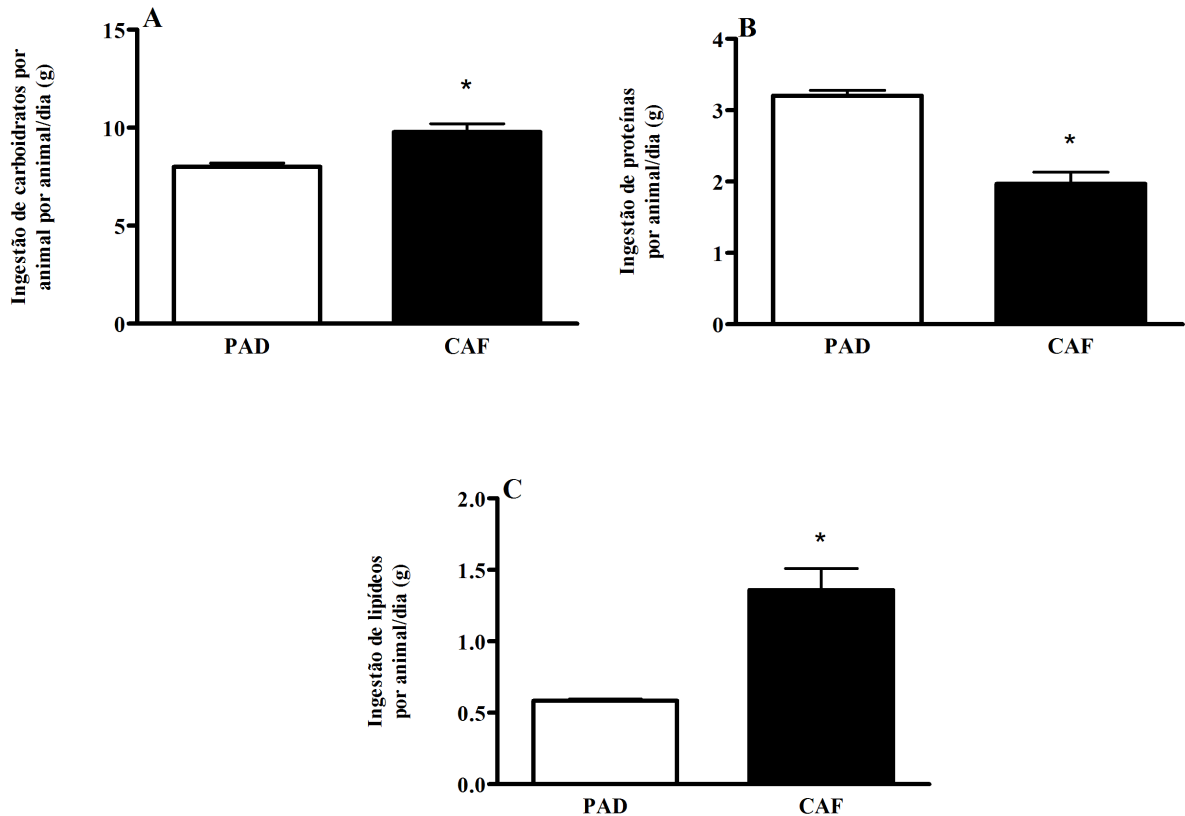


Fig. 2. A. Ingestão de carboidratos por animal/dia, B. Ingestão de proteínas por animal/dia e C. Ingestão de lipídeos por animal/dia na 26ª semana de experimento. Os valores são média \pm E.P.M. **PAD** (Controle, n=12) e **CAF** (Dieta, n=12). * $P < 0,05$. Teste t Student.

Na 26ª semana de experimento a dieta de cafeteria em adição à ração padrão e água causou um aumento significativo na ingestão energética total e no peso corporal no grupo CAF quando comparado ao grupo PAD ($P < 0,05$, **Fig. 3. A e C**, respectivamente) na 26ª semana de experimento. Contudo, a ingestão de energia de alimentos sólidos (compostos pelos valores energéticos da ração padrão e dos alimentos da dieta de cafeteria ingeridos, menos o valor energético representado pela ingestão de refrigerante) foi significativamente menor no grupo CAF comparada ao grupo PAD ($P < 0,05$, **Fig. 3. B**) na 26ª semana.

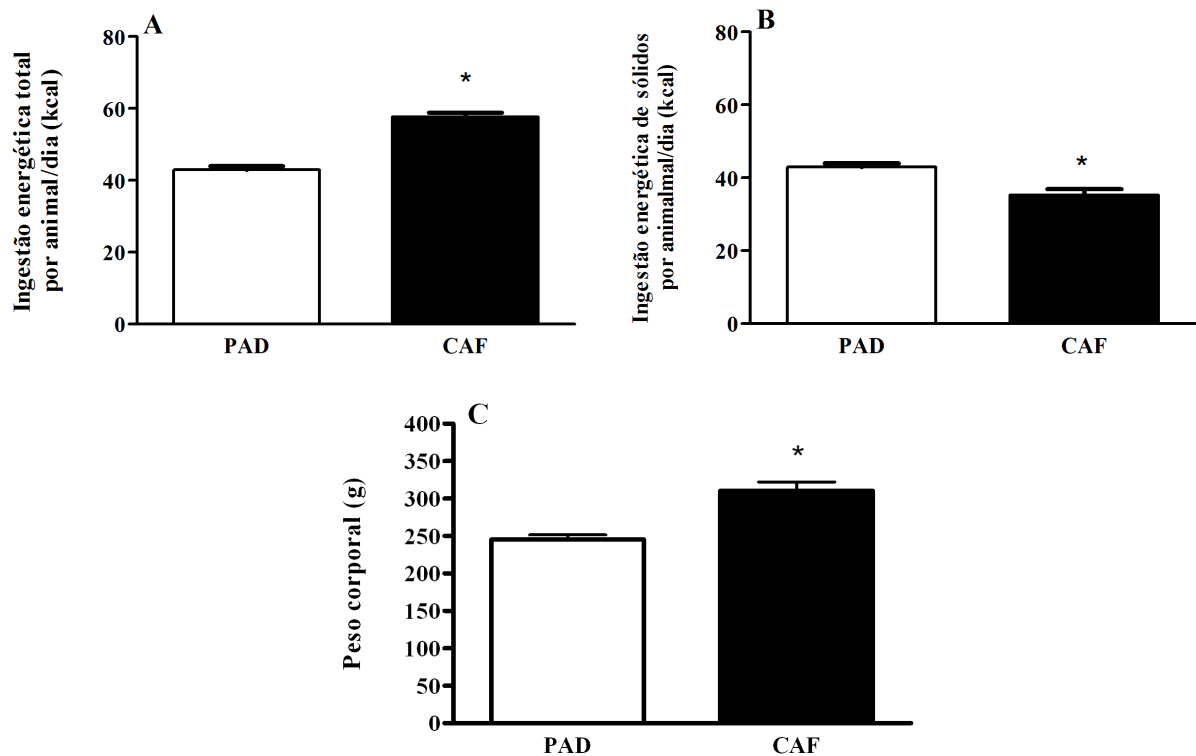


Fig. 3. A. Ingestão energética total por animal/dia, B. Ingestão energética de sólidos e C. Peso corporal na 26ª semana de experimento. Os valores são média \pm E.P.M. PAD (Controle, n=12) e CAF (Dieta, n=12). * $P < 0,05$. Teste t Student. Ingestão energética de sólidos foi a soma dos valores energéticos ingeridos a partir da ração padrão e dos alimentos da dieta de cafeteria menos o valor energético que resultou da ingestão de refrigerante.

A evolução da ingestão energética em ambos os grupos sofreu influência significativa do tempo e do tipo de alimentação [$F(25,300)=4,11$, $P < 0,05$], assim como somente do tipo de alimentação [$F(1,300)=556,30$; $P < 0,05$] e somente do tempo [$F(25,300)=17,41$; $P < 0,05$]. A exposição à dieta de cafeteria em adição à ração padrão e água causou uma tendência à maior ingestão energética total nos animais do grupo CAF comparado ao grupo PAD desde a 1ª semana de experimento, sendo que a ingestão de energia foi significativamente maior na 3ª, 7ª e 8ª semanas de experimento ($p < 0,05$, **Fig. 4**). Ainda mantendo uma ingestão energética sustentada, o grupo CAF voltou a apresentar uma ingestão energética significativamente maior na 10ª semana que foi mantida até a 26ª de experimento ($p < 0,05$, **Fig. 4**).

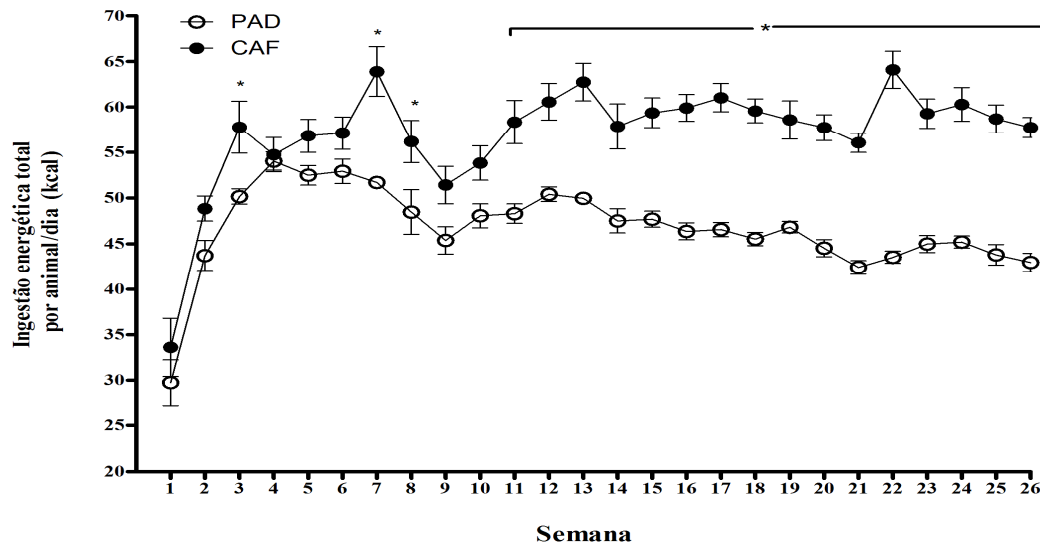


Fig. 4. Ingestão energética total por animal/dia ao longo de 26 semanas de experimento. Os valores são média \pm E.P.M. PAD (Controle, n=12) e CAF (Dieta, n=12). * $P < 0,05$. ANOVA de duas vias com pós-teste Bonferroni.

A evolução da ingestão energética de sólidos (alimentos da dieta de cafeteria sem refrigerante e ração padrão) sofreu influência significativa do tempo e do tipo de alimentação [F (6,62)=2,271; $P < 0,05$], assim como sofreu influência significativa somente do tipo de alimentação [F (18,68)=290,7; $P < 0,05$] e do tempo [F (38,98)=13,38; $P < 0,05$]. A ingestão energética de sólidos do grupo CAF foi significativamente menor que o grupo PAD na 12^a, 14^a ($p < 0,05$, **Fig. 5**). A tendência à menor ingestão de alimentos sólidos no grupo CAF comparado ao grupo PAD, tornou-se significativamente menor na 10^a semana e da 14^a semana a 24^a semana de experimento ($p > 0,05$, **Fig. 5**). Por outro lado, a ingestão energética de refrigerante teve um aumento sustentado desde a 1^a semana de experimento (dados referentes apenas à ingestão do grupo CAF) (**Fig. 6**)

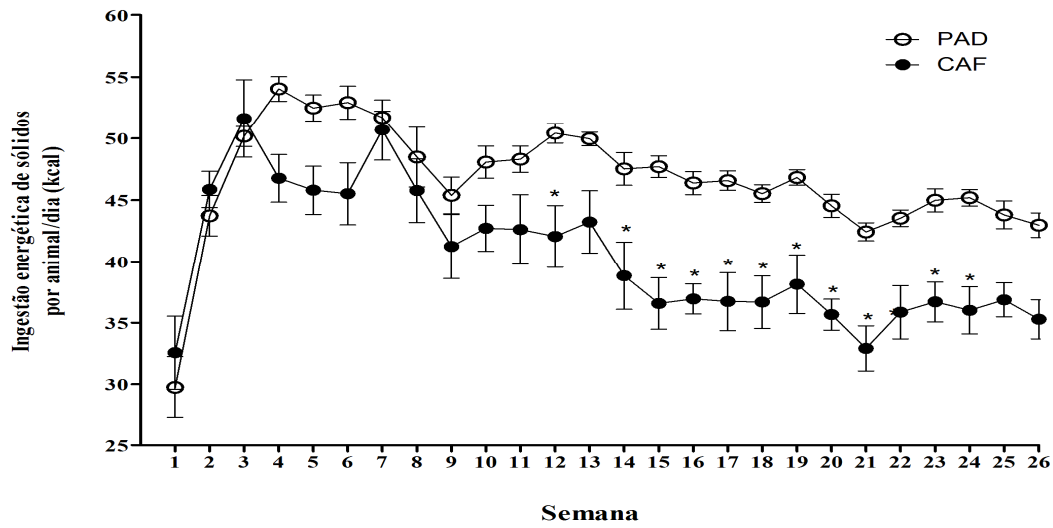


Fig. 5. Ingestão energética de sólidos por animal/dia ao longo de 26 semanas de experimento. Os valores são média \pm E.P.M. PAD (Controle, n=12) e CAF (Dieta, n=12). *P<0,05. ANOVA de duas vias com pós-teste Bonferroni. Sólidos representam a soma da ingestão energética referente à ração padrão e de sólidos palatáveis.

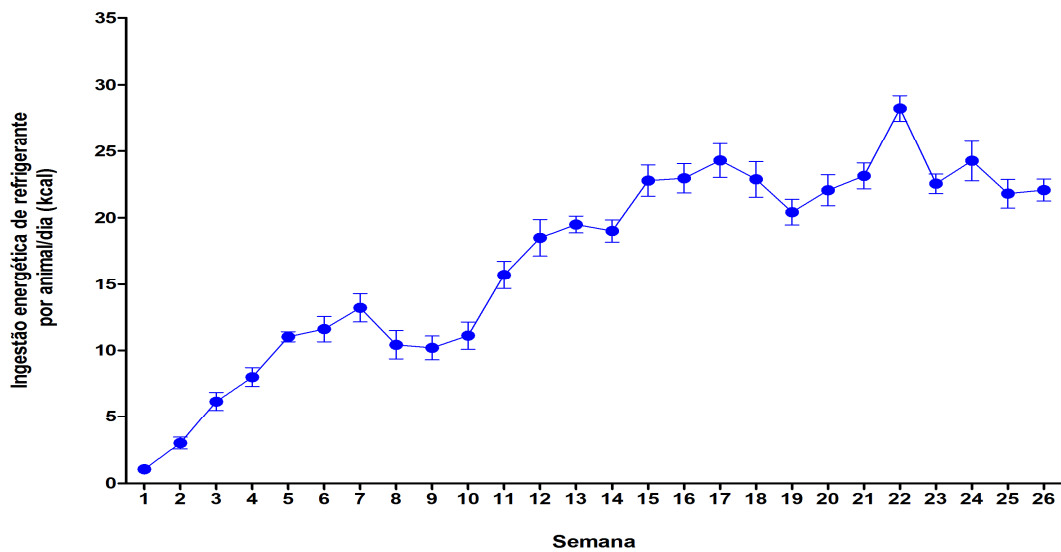


Fig. 6. Ingestão energética de refrigerante por animal/dia ao longo de 26 semanas de experimento no grupo CAF (Dieta, n=12). Os valores são média \pm E.P.M.

A evolução do peso corporal sofreu influência significativa do tempo e do tipo de alimentação [F (26,494)=23,14, P<0,05], assim como sofreu influência significativa somente do tipo de alimentação [F (1,494)=7,899; P<0,05] e do tempo [F (26,494)=801,2; P<0,05]. O peso corporal do grupo CAF apresentou um aumento sustentado em relação ao grupo PAD a partir da 5ª semana pós-desmame. A partir da 16ª semana pós-desmame, o grupo CAF

apresentou um peso corporal significativamente maior comparado ao grupo PAD ($p < 0,05$, Fig. 7).

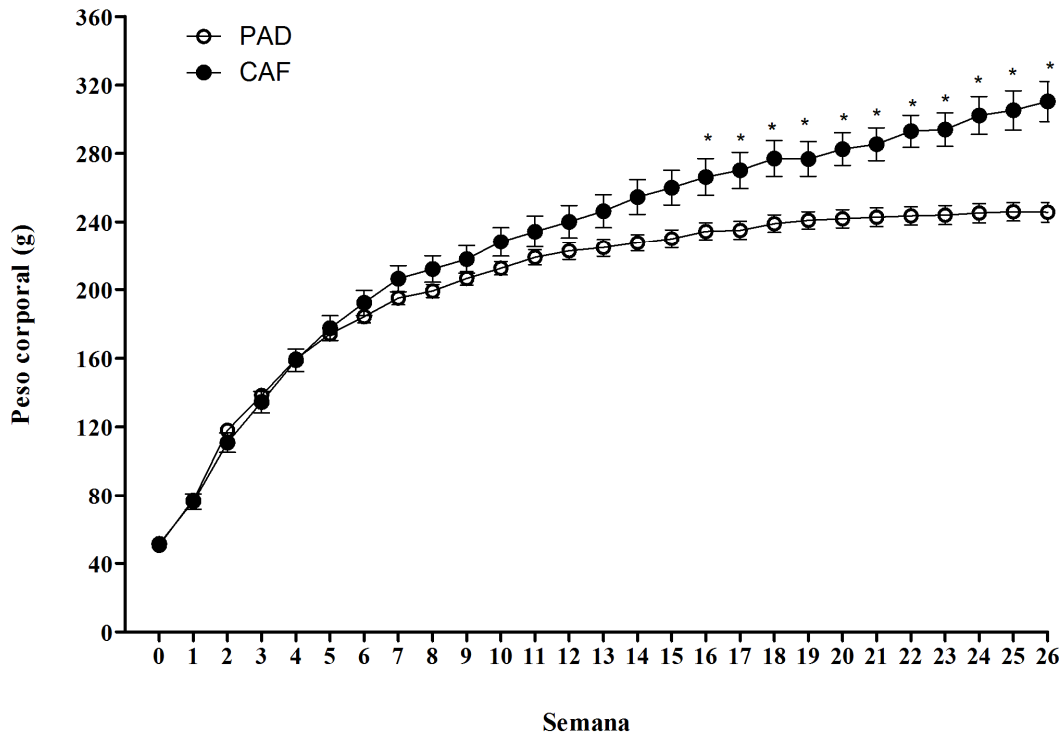


Fig. 7. Peso corporal semanal ao longo de 26 semanas de experimento. Os valores são média \pm E.P.M. PAD (Controle, n=12) e CAF (Dieta, n=12). * $P < 0,05$. ANOVA de duas vias com pós-teste Bonferroni.

Na 26^a semana de experimento, o peso do tecido adiposo visceral abdominal e o peso do fígado foram significativamente maiores no grupo CAF comparado ao grupo PAD ($p < 0,05$, Fig.8.A e B). No mesmo período, o peso ovariano foi significativamente menor no grupo CAF comparado ao grupo PAD ($p < 0,05$, Fig.8.C).

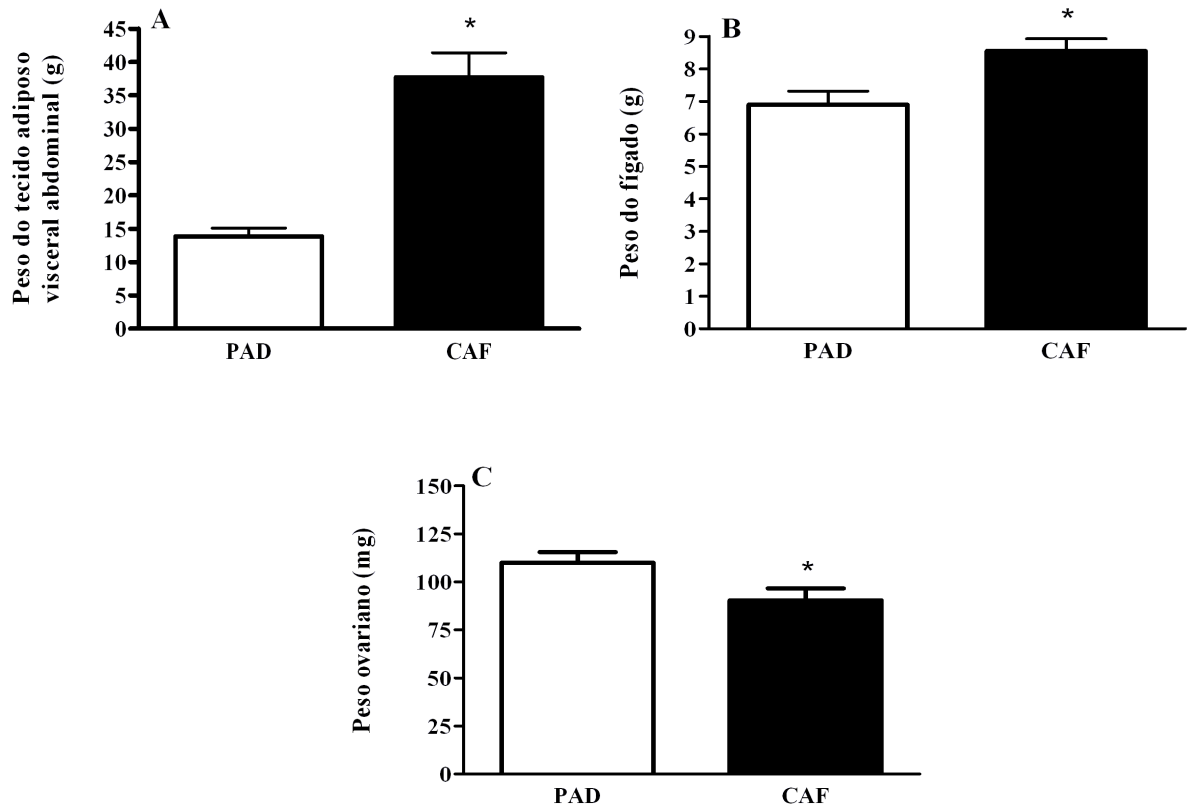


Fig. 8. A. Peso do tecido adiposo visceral abdominal, B. Peso do fígado e C. Peso ovariano na 26ª semana de experimento. Os valores são média \pm E.P.M. PAD (Controle, n=12) e CAF (Dieta, n=12). *P<0,05. Teste t Student.

A ingestão de dieta de cafeteria em adição à ração padrão e água causou um aumento significativo na pressão arterial sistólica no grupo CAF comparado ao grupo PAD na 26ª semana de experimento ($p < 0,05$, **Fig.9**)

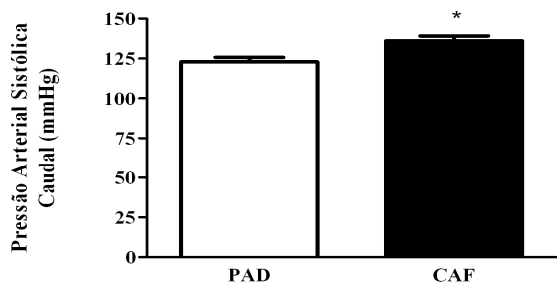


Fig. 9. Pressão arterial sistólica caudal na 26ª semana de experimento. Os valores são média \pm E.P.M. PAD (Controle, n=12) e CAF (Dieta, n=12). *P<0,05. Test t Student.

No período da 7^a até a 26^a semana de experimento não houve diferença entre os grupos CAF e PAD na regularidade do ciclo estral quando avaliados os parâmetros de número de ciclos estrais e duração média dos ciclos estrais ($P>0,05$, **Fig.10. A e B**). Em relação à duração média das fases do ciclo estral, o grupo CAF apresentou uma duração média da fase de metaestro significativamente maior comparada ao grupo PAD ($P<0,5$, **Fig. 10. C**).

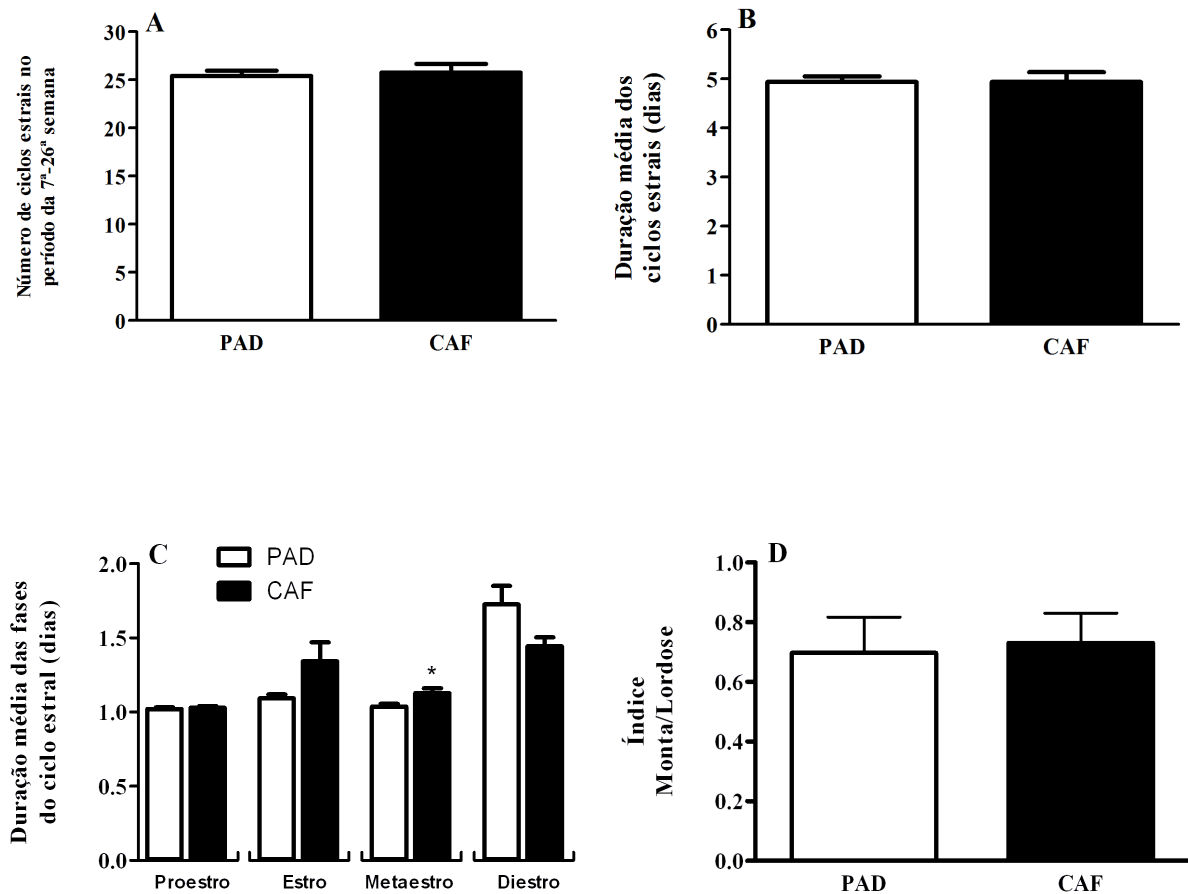


Fig. 10. Regularidade do ciclo estral e Comportamento Sexual. A. Número de ciclos estrais, B. Duração média dos ciclos estrais e C. Duração média das fases do ciclo estral da 7^a até a 26^a semana de experimento. D. Comportamento sexual avaliado pelo índice monta/lordose na noite do proestro. Os valores são média \pm E.P.M. PAD (Controle, n=12) e CAF (Dieta, n=12). * $P<0,05$. Teste t Student.

A concentração plasmática de glicose, após jejum de 12-13 horas, não foi diferente entre o grupo CAF e o grupo PAD na 26^a semana de experimento ($P>0,05$, **Fig. 11. A**). Porém, a oferta de dieta de cafeteria em adição à ração padrão e água causou um aumento significativo na concentração plasmática de insulina de jejum no grupo CAF comparada ao grupo PAD ($P<0,05$, **Fig. 11. B**). Da mesma forma, o HOMA-IR foi significativamente maior no grupo Dieta comparado ao grupo Controle ($P<0,05$, **Fig. 11. C**).

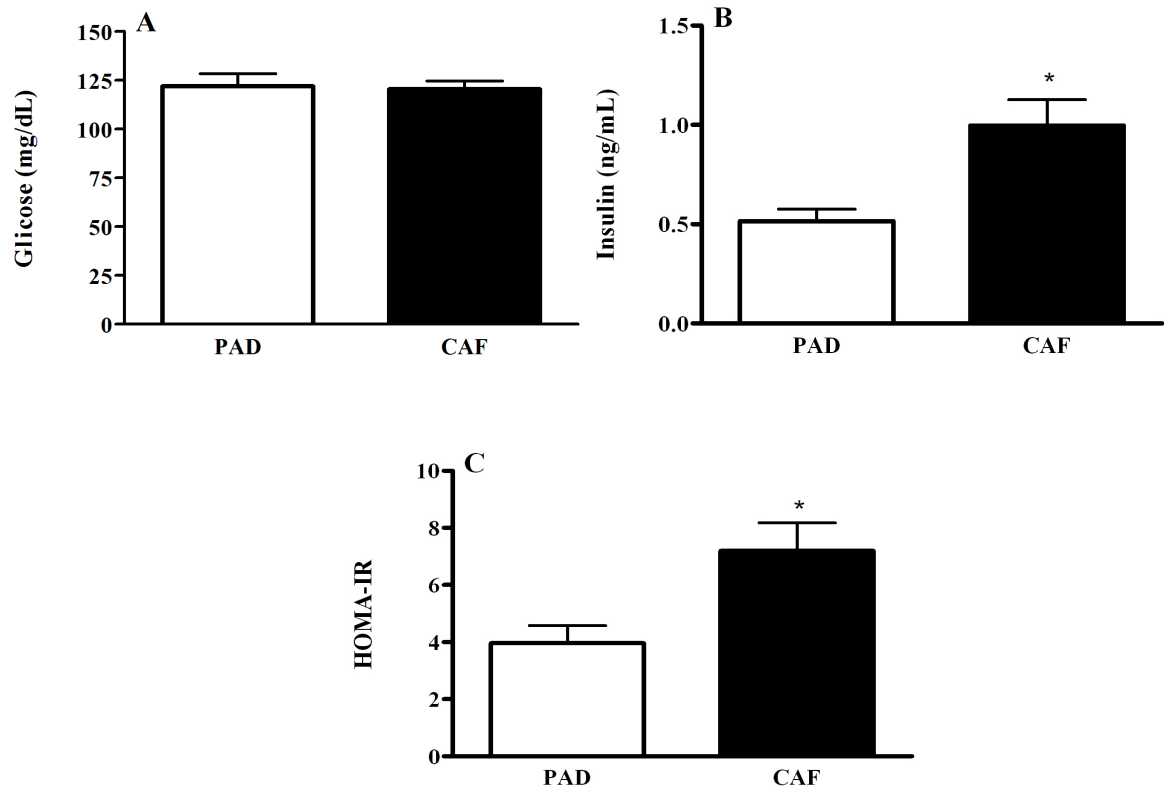


Fig. 11. A. Concentração plasmática de glicose após jejum de 12-13 horas, B. Concentração plasmática de insulina após jejum de 12-13 horas e C. Índice de resistência insulínica HOMA-IR na 26ª semana de experimento. Os valores são média \pm E.P.M. PAD (Controle, n=12) e CAF (Dieta, n=12). * $P < 0,05$. Teste t Student.

5.2 Experimento 2: Efeito da modificação alimentar e/ou exercício por 8 semanas sobre os desfechos produzidos pela dieta de cafeteria.

O experimento 2 teve duração de 34 semanas e foi conduzido com o grupo PAD-PAD-SED (Controle-Controle-Sedentário, animais que receberam ração padrão e água *ad libitum* por 8 semanas, após acesso prévio de 26 semanas à ração padrão e água *ad libitum*), grupo CAF-CAF-SED (Dieta-Dieta-Sedentário, animais que receberam dieta de cafeteria *ad libitum* em adição à ração padrão e água por 8 semanas, após acesso prévio *ad libitum* de 26 semanas à dieta de cafeteria em adição à ração padrão e água), grupo CAF-PAD-SED (Dieta-Modificação Alimentar-Sedentário, animais que receberam ração padrão e água *ad libitum* por 8 semanas, após acesso prévio *ad libitum* de 26 semanas à dieta de cafeteria em adição à ração padrão e água), grupo CAF-CAF+EX (Dieta-Dieta+Exercício, animais que receberam

dieta de cafeteria *ad libitum* em adição à ração padrão e água e foram submetidos ao protocolo de exercício físico por 8 semanas, após acesso prévio *ad libitum* de 26 semanas à dieta de cafeteria em adição à ração padrão e água) e o grupo CAF-PAD+EX (Dieta-Modificação Alimentar+Exercício, animais receberam ração padrão e água *ad libitum* e foram submetidos ao protocolo de exercício físico por 8 semanas, após acesso prévio *ad libitum* de 26 semanas à dieta de cafeteria em adição à ração padrão e água).

A ingestão de ração por animal/dia foi significativamente maior no grupo CAF-PAD+EX comparada aos demais grupos na 34^a semana de experimento ($P < 0,05$, **Fig. 12. A**). Por outro lado, a ingestão de ração padrão por animal/dia foi significativamente menor nos grupos CAF-CAF-SED, CAF-PAD-SED e CAF-CAF+EX comparada ao grupo PAD-PAD-SED no mesmo período ($P < 0,05$, **Fig. 12. A**). A ingestão de água por animal/dia na 34^a semana de experimento foi significativamente maior no grupo CAF-PAD+EX comparada aos demais grupos ($P < 0,05$, **Fig. 12. B**). No mesmo período, a ingestão de água por animal/dia foi significativamente maior no grupo PAD-PAD-SE e no grupo CAF-PAD-SED comparada à ingestão de água nos grupos CAF-CAF-SED e CAF-CAF+EX (**Fig. 12. B**). Porém, o grupo CAF-CAF+EX apresentou uma ingestão de água significativamente maior que o grupo CAF-CAF-SED na 34^a semana de experimento ($P < 0,05$, **Fig. 12. B**). A ingestão líquida total por animal/dia foi significativamente maior nos grupos CAF-CAF+EX e CAF-CAF-SED comparada aos demais grupos na 34^a semana de experimento ($P < 0,05$, **Fig. 12. C**). Além de apresentar uma ingestão de água maior que os demais grupos, o grupo CAF-CAF+EX demonstrou uma ingestão líquida total significativamente maior que o grupo CAF-CAF-SED ($P < 0,05$, **Fig. 12. C**). Na comparação com o grupo PAD-PAD-SED e CAF-PAD-SED, o grupo CAF-PAD+EX apresentou uma ingestão líquida total significativamente maior na 34^a semana de experimento ($P < 0,05$, **Fig. 12. C**). A ingestão de sódio por animal/dia na 34^a semana de experimento foi significativamente maior nos grupos CAF-CAF-SED e CAF-CAF+EX comparada aos demais grupos ($P < 0,05$, **Fig. 12. D**), enquanto que o grupo CAF-PAD+EX apresentou uma ingestão de sódio significativamente maior que o grupo CAF-PAD-SED na 34^a semana de experimento ($P < 0,05$, **Fig. 12. D**).

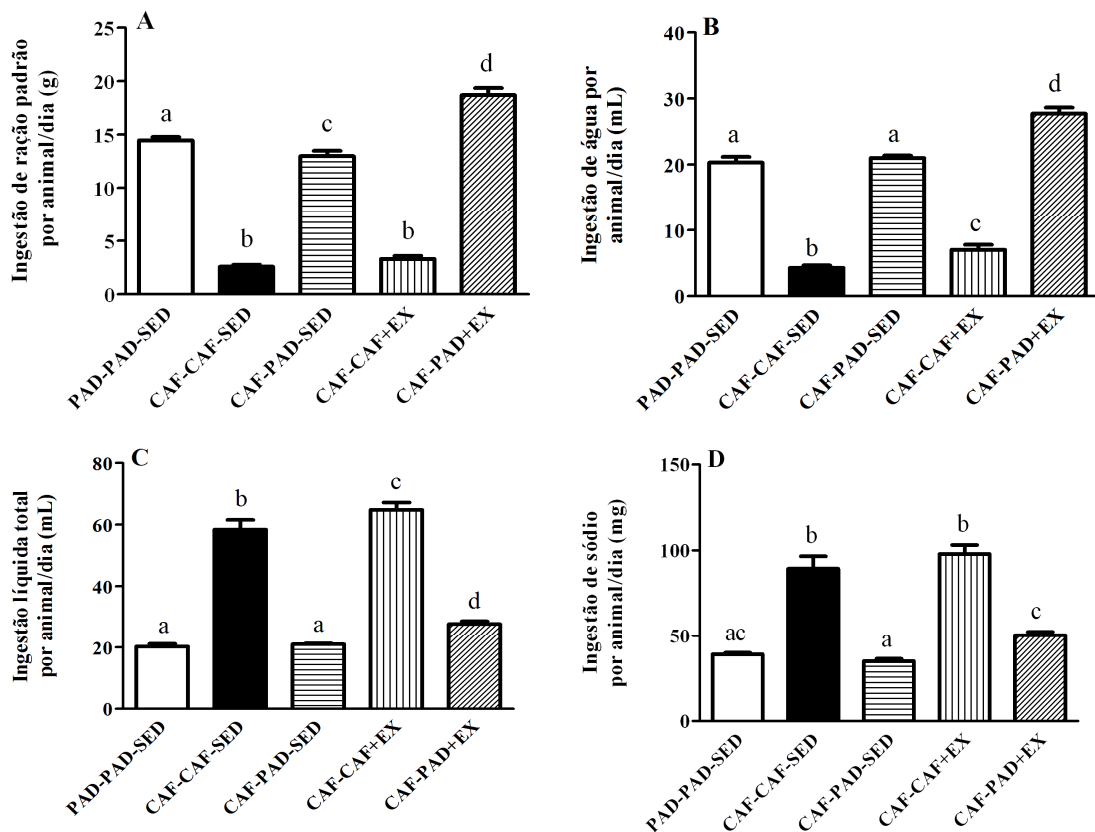


Fig. 12. A. Ingestão de ração padrão por animal/dia, B. Ingestão de água por animal/dia, C. Ingestão líquida total por animal/dia e D. Ingestão de sódio por animal/dia na 34ª semana de experimento. PAD-PAD-SED (Controle-Controle-Sedentário, n=11), CAF-CAF-SED (Dieta-Dieta-Sedentário, n=10), CAF-PAD-SED (Dieta-Modificação Alimentar-Sedentário, n=12), CAF-CAF+EX (Dieta-Dieta+Exercício, n=12) e CAF-PAD+EX (Dieta-Modificação Alimentar+Exercício, n=11). ANOVA de uma via com pós teste Student Newman-Keuls. Os valores são média \pm E.P.M. Letras diferentes indicam diferença entre os grupos com $P < 0,05$. No grupo PAD-PAD-SED líquido total é apenas água e no grupo CAF-CAF-SED líquido total é a soma da ingestão de água e refrigerante.

A ingestão de carboidrato por animal/dia na 34ª semana de experimento foi significativamente maior no grupo CAF-CAF+EX comparado aos grupos PAD-PAD-SED, CAF-CAF-SED e CAF-PAD-SED ($P < 0,05$, Fig. 13. A). Observou-se também que os grupos CAF-PAD+EX e CAF-CAF-SED apresentaram uma ingestão de carboidratos significativamente maior comparada aos grupos PAD-PAD-SED e CAF-PAD-SED na 34ª semana de experimento ($P < 0,05$, Fig. 13. A), os quais apresentaram a menor ingestão de carboidratos entre todos os grupos. A ingestão de proteína por animal/dia na 34ª semana de experimento foi significativamente menor nos grupos CAF-CAF-SED e CAF-CAF+EX comparada aos demais grupos ($p < 0,05$, Fig. 13. A). Por outro lado, a ingestão protéica foi significativamente maior no grupo CAF-PAD+EX comparada aos demais grupos, enquanto a ingestão entre os grupos PAD-PAD-SED e CAF-PAD-SED foi igual na 34ª semana de experimento ($P < 0,05$, Fig. 13. B). A ingestão de lipídeos por animal/dia foi significativamente maior nos grupo CAF-CAF-SED e CAF-CAF+EX comparada aos demais grupos na 34ª

semana de experimento ($P < 0,05$, **Fig. 13. A**). Por outro lado, a ingestão de lipídeos por animal/dia nos grupos PAD-PAD-SED, CAF-PAD-SED e CAF-PAD+EX foi semelhante ao final do experimento ($P > 0,05$, Fig. 13. C).

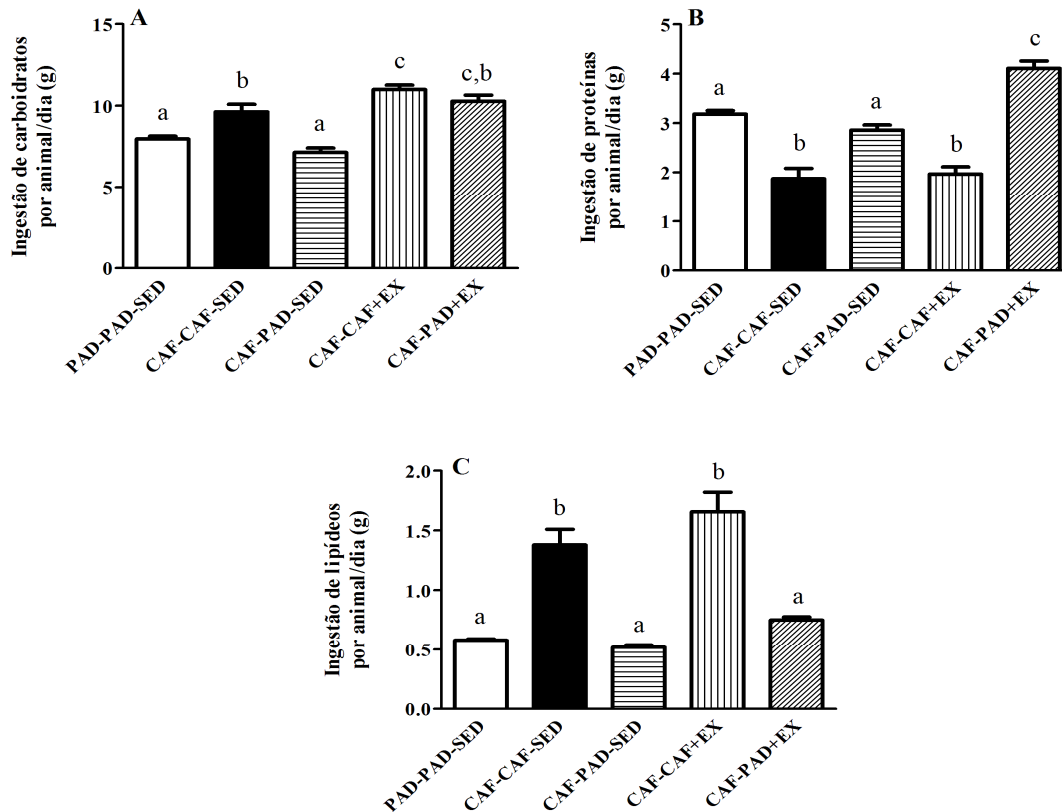


Fig. 13. A. Ingestão de carboidrato por animal/dia, **B.** Ingestão de proteína por animal/dia e **C.** Ingestão de lipídeo por animal/dia na 34ª semana de experimento. PAD-PAD-SED (Controle-Controle-Sedentário, n=11), CAF-CAF-SED (Dieta-Dieta-Sedentário, n=10), CAF-PAD-SED (Dieta-Modificação Alimentar-Sedentário, n=12), CAF-CAF+EX (Dieta-Dieta+Exercício, n=12) e CAF-PAD+EX (Dieta-Modificação Alimentar+Exercício, n=11). ANOVA de uma via com pós teste Student Newman-Keuls. Os valores são média \pm E.P.M. Letras diferentes indicam diferença entre os grupos com $P < 0,05$.

A ingestão de energia por animal /dia na 34ª semana de experimento foi significativamente maior no grupo CAF-CAF+EX quando comparado aos demais grupos do experimento ($P < 0,05$, **Fig. 14.A**). Observou-se também que, nos grupos CAF-CAF+SED e CAF-PAD+EX houve uma maior ingestão de energia por animal/dia na 34ª semana de experimento quando comparado aos grupos PAD-PAD-SED e CAF-PAD-SED ($P < 0,05$, **Fig. 14.A**), os quais apresentaram a menor ingestão de energia por animal/dia no experimento. A ingestão energética de sólidos por animal/dia na 34ª semana de experimento foi

significativamente maior no grupo CAF-PAD+EX em comparação aos demais grupos do experimento ($P < 0,05$, **Fig. 14.B**). Em paralelo, o grupo CAF-CAF-SED apresentou uma ingestão energética de sólidos significativamente menor que os grupos PAD-PAD-SED e CAF-CAF-EX na 34ª semana de experimento ($P < 0,05$, **Fig. 14.B**). Por outro lado, a ingestão de sólidos foi semelhante entre os grupos PAD-PAD-SED, CAF-PAD-SED e CAF-CAF-EX ($P > 0,05$, **Fig. 14. B**). O peso corporal ao final da 34ª semana de experimento foi significativamente maior nos grupos CAF-CAF+EX e CAF-CAF-SED comparado aos demais grupos ($P > 0,05$, **Fig. 14. C**). Entre os grupos PAD-PAD-SED, CAF-PAD-SED e CAF-PAD+EX não foi observada diferença significativa entre o peso corporal ao final do experimento ($P > 0,05$, **Fig. 14. C**).

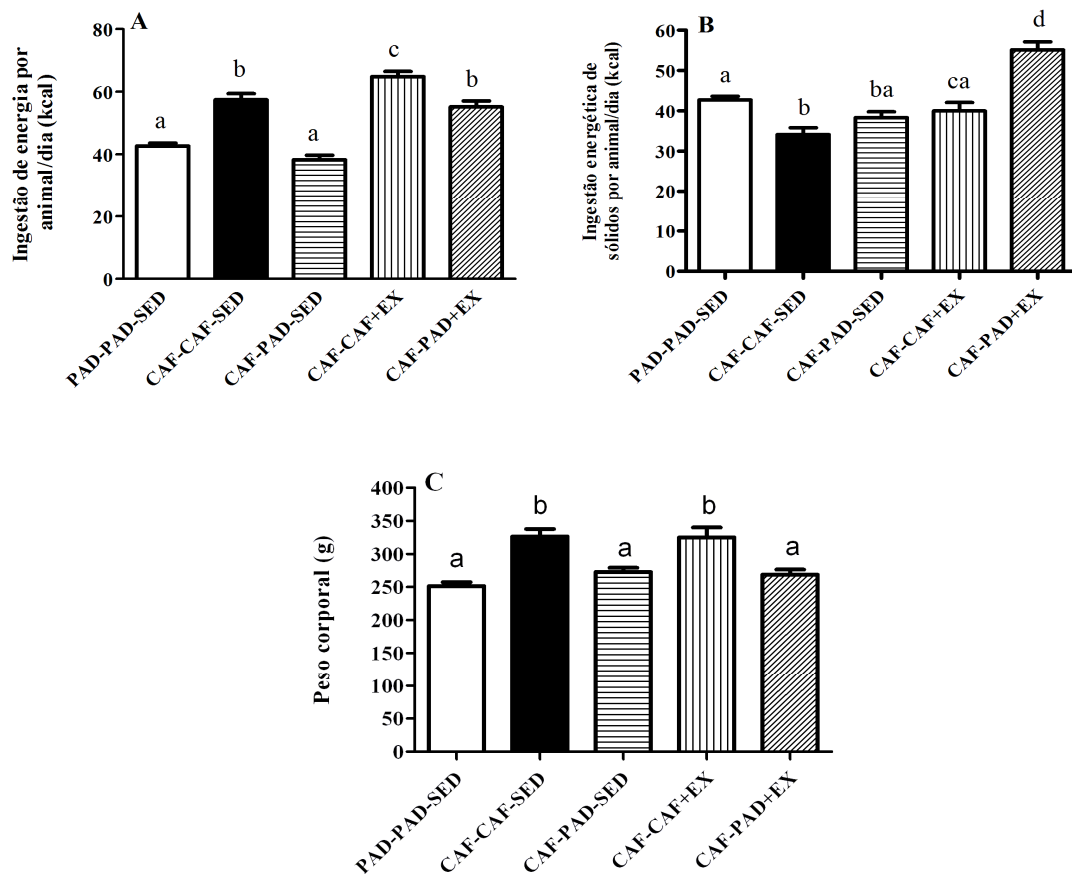


Fig. 14. A. Ingestão de energia por animal/dia, B. Ingestão energética de sólidos por animal/dia e C. Peso corporal na 34ª semana de experimento. PAD-PAD-SED (Controle-Controle-Sedentário, n=11), CAF-CAF-SED (Dieta-Dieta-Sedentário, n=10), CAF-PAD-SED (Dieta-Modificação Alimentar-Sedentário, n=12), CAF-CAF+EX (Dieta-Dieta+Exercício, n=12) e CAF-PAD+EX (Dieta-Modificação Alimentar+Exercício, n=11). ANOVA de uma via com pós teste Student Newman-Keuls. Os valores são média \pm E.P.M. Letras diferentes indicam diferença entre os grupos com $P < 0,05$.

Na 34ª semana de experimento o peso do tecido adiposo visceral foi significativamente maior nos grupos CAF-CAF-SED e CAF-CAF+EX comparado aos demais

grupos. Já entre os grupos PAD-PAD-SED, CAF-PAD-SED E CAF-PAD+EX não houve diferença significativa em relação ao peso do tecido adiposo visceral na 34ª semana de experimento ($P>0,05$, **Fig.15. A**). O peso do fígado na 34ª semana foi significativamente maior nos grupos CAF-CAF-SED e CAF-CAF-EX em comparação aos demais grupos ($P<0,05$, **Fig.16. B**), sendo que não houve diferença significativa em relação ao peso do fígado nos grupos PAD-PAD-SED, CAF-PAD-SED e CAF-PAD+EX ($P>0,05$, **Fig.15. B**). O peso ovariano na 34ª semana de experimento não apresentou diferença significativa entre os grupos experimentais ($P<0,05$, **Fig. 15. C**).

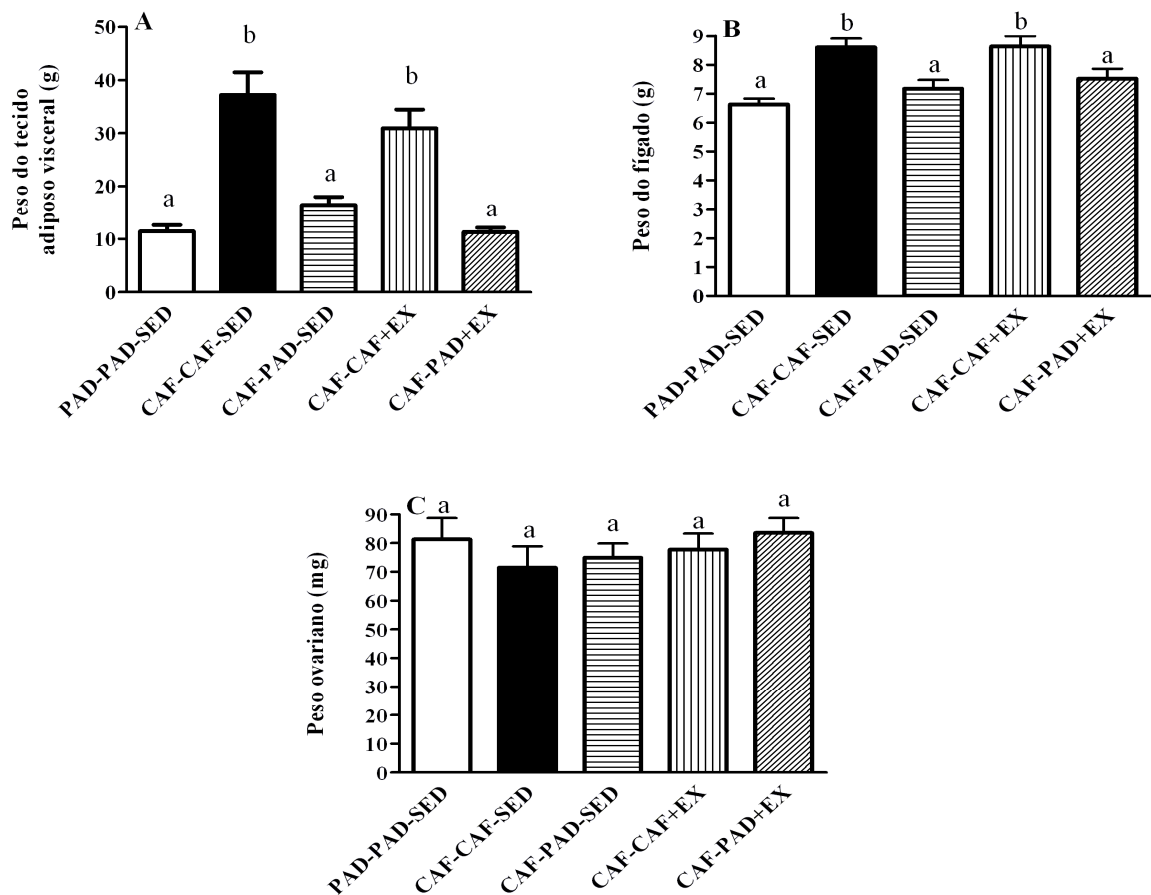


Fig. 15. A, Peso do tecido adiposo visceral, **B**. Peso do fígado e **C**. Peso ovariano na 34ª semana de experimento. **PAD-PAD-SED** (Controle-Controle-Sedentário), **CAF-CAF-SED** (Dieta-Dieta-Sedentário), **CAF-PAD-SED** (Dieta-Modificação Alimentar-Sedentário), **CAF-CAF+EX** (Dieta-Dieta+Exercício), e **CAF-PAD+EX** (Dieta-Modificação Alimentar+Exercício). ANOVA de uma via com pós teste Student Newman-Keuls. Os valores são média \pm E.P.M. Letras diferentes indicam diferença entre os grupos com $P>0,05$. Tecido adiposo visceral (n=10-12); Fígado (n=9-12); Ovário (n=10-12).

A pressão arterial sistólica na 34ª semana de experimento não foi significativamente diferente entre os grupos experimentais ($P>0,05$, **Fig. 16**).

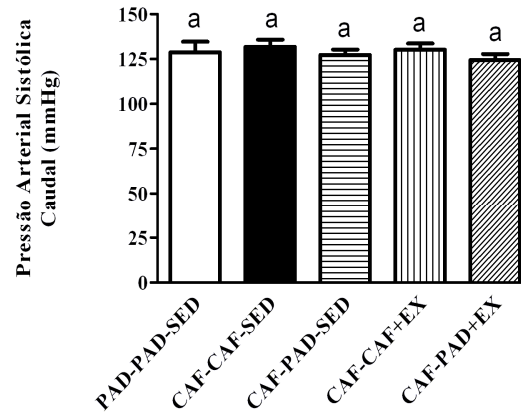


Fig. 16. Pressão arterial sistólica caudal na 34ª semana de experimento. **PAD-PAD-SED** (Controle-Controle-Sedentário, n=10), **CAF-CAF-SED** (Dieta-Dieta-Sedentário, n=10), **CAF-PAD-SED** (Dieta-Modificação Alimentar-Sedentário, n=11), **CAF-CAF+EX** (Dieta-Dieta+Exercício, n=12) e **CAF-PAD+EX** (Dieta-Modificação Alimentar+Exercício, n=11). ANOVA de uma via. Os valores são média \pm E.P.M. Letras iguais indicam ausência de diferença significativa entre os grupos experimentais com $P>0,05$.

A regularidade do ciclo estral da 29ª até a 34ª semana de experimento e o comportamento sexual na 34ª semana de experimento não apresentaram diferenças significativas entre os grupos experimentais (**Fig. 17. A-G**).

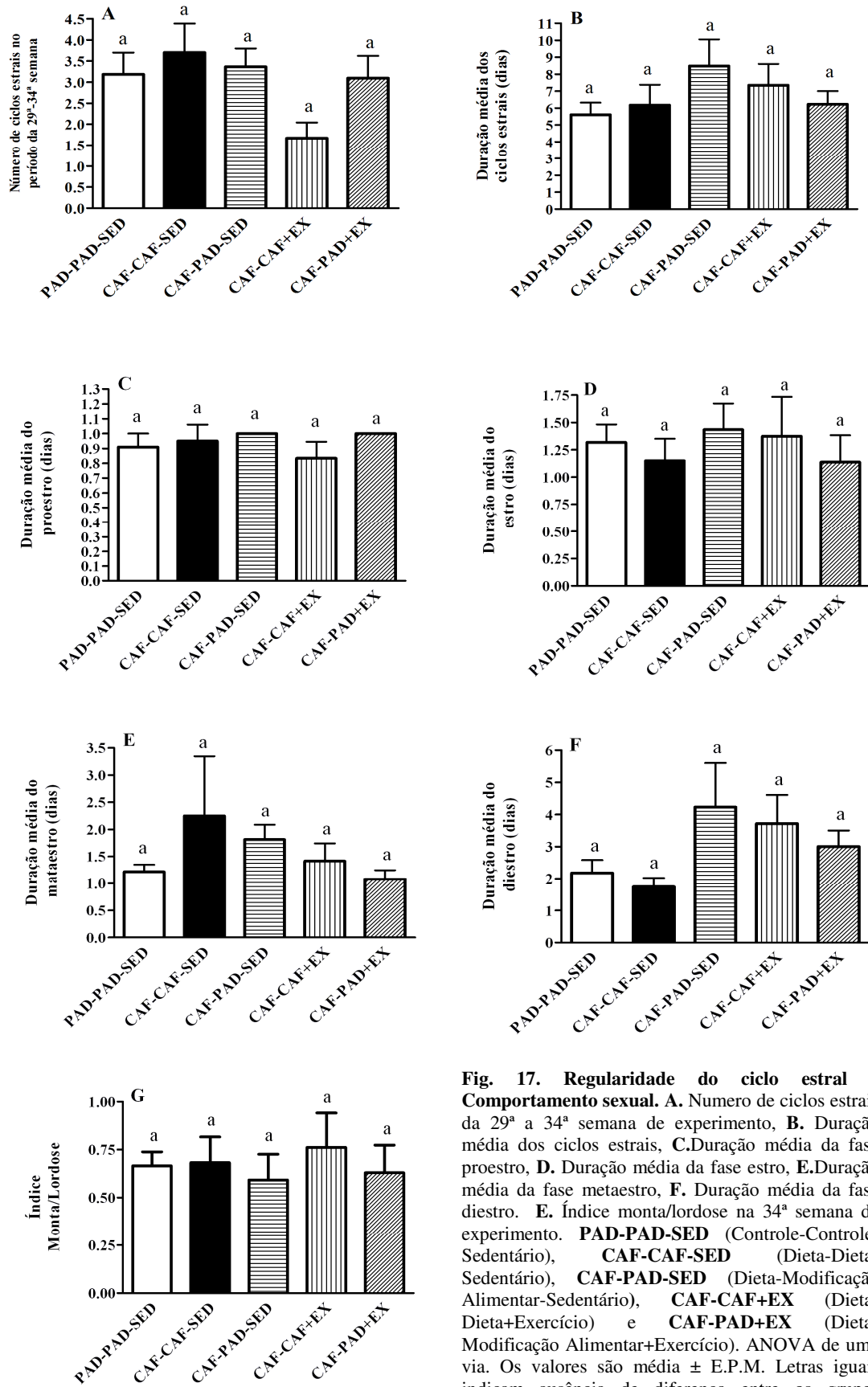


Fig. 17. Regularidade do ciclo estral e Comportamento sexual. A. Número de ciclos estrais da 29^a a 34^a semana de experimento, B. Duração média dos ciclos estrais, C. Duração média da fase proestro, D. Duração média da fase estro, E. Duração média da fase metaestro, F. Duração média da fase diestro. E. Índice monta/lordose na 34^a semana de experimento. PAD-PAD-SED (Controle-Controle-Sedentário), CAF-CAF-SED (Dieta-Dieta-Sedentário), CAF-PAD-SED (Dieta-Modificação Alimentar-Sedentário), CAF-CAF+EX (Dieta-Dieta+Exercício) e CAF-PAD+EX (Dieta-Modificação Alimentar+Exercício). ANOVA de uma via. Os valores são média \pm E.P.M. Letras iguais indicam ausência de diferença entre os grupos experimentais com $P > 0,05$.

A concentração plasmática de glicose após jejum de 12-13 horas não diferiu significativamente entre os grupos na 34ª semana do experimento ($P>0,05$, **Fig. 18. A**). A concentração plasmática de insulina de jejum na 34ª semana do experimento foi significativamente maior no grupo CAF-CAF-SED comparado aos demais grupos ($P<0,05$, **Fig. 18. B**). Não se verificou diferença significativa entre os grupos PAD-PAD-SED, CAF-PAD-SED, CAF-CAF+EX e CAF-PAD+EX na 34ª semana de experimento ($P>0,05$, **Fig. 18. B**). Na 34ª semana de experimento o HOMA-IR foi significativamente maior no grupo CAF-CAF-SED em comparação aos demais grupos ($P<0,05$, **Fig. 18. C**). Não se verificou diferença significativa entre os grupos PAD-PAD-SED, CAF-PAD-SED, CAF-CAF+EX e CAF-PAD+EX em relação ao HOMA-IR na 34ª semana do experimento ($P>0,05$, **Fig. 18. C**).

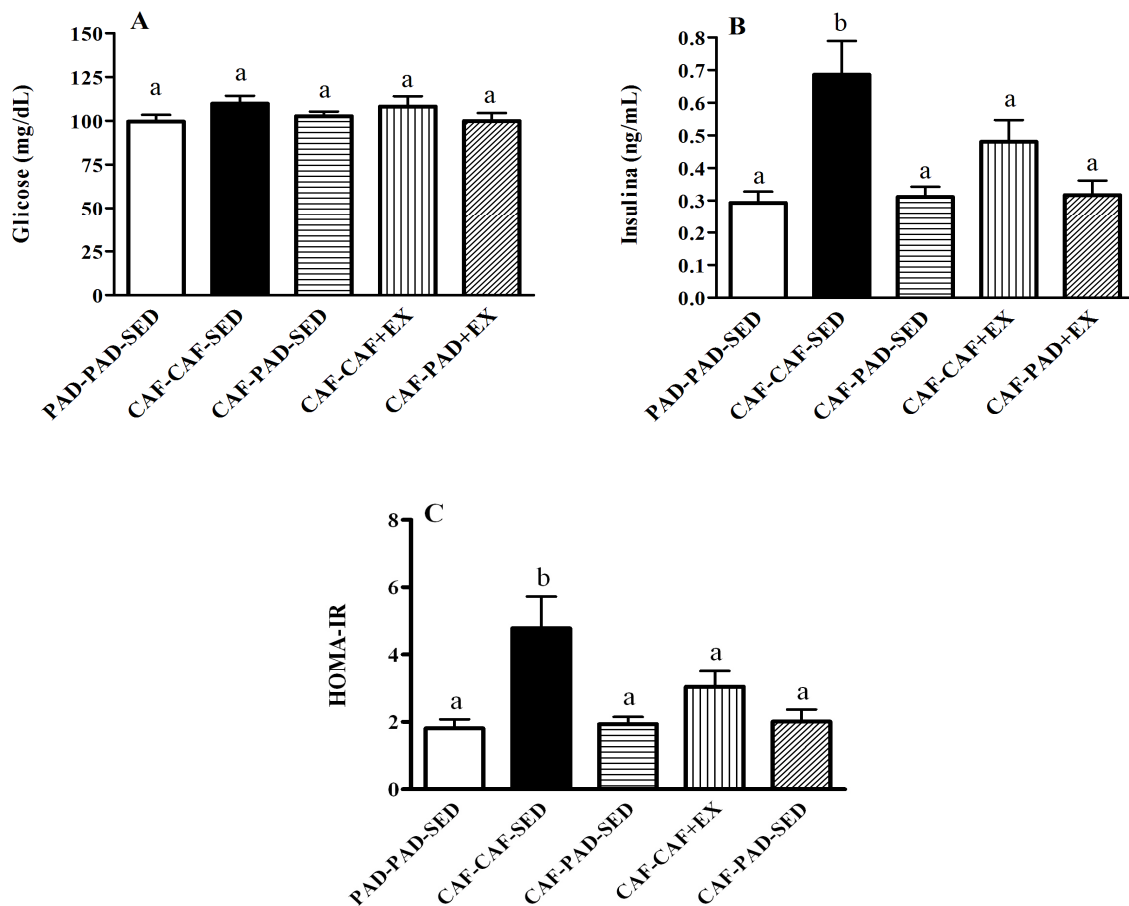


Fig. 18. A. Concentração plasmática de glicose após jejum de 12-13 horas, B. Concentração plasmática de insulina após jejum de 12-13 horas e C. Índice de resistência insulínica HOMA-IR na 34ª semana de experimento. Os valores são média \pm E.P.M. PAD-PAD-SED (Controle-Controle-Sedentário), CAF-CAF-SED (Dieta-Dieta-Sedentário), CAF-PAD-SED (Dieta-Modificação Alimentar-Sedentário), CAF-CAF+EX (Dieta-Dieta+Exercício) e CAF-PAD+EX (Dieta-Modificação Alimentar+Exercício). ANOVA de uma via com pós teste Student Newman-Keuls. Os valores são média \pm E.P.M. Letras diferentes indicam diferença entre os grupos com $P<0,05$.

6. DISCUSSÃO

6.1 Experimento 1: *Efeito da dieta de cafeteria desde o desmame sobre a ingestão alimentar, peso corporal, peso dos órgãos, pressão arterial, regularidade do ciclo estral, comportamento sexual, concentrações de glicose plasmática e insulina após 26 semanas.*

A aplicação da dieta de cafeteria em ratas Wistar desde o desmame em adição à ração padrão e água por 26 semanas provocou uma drástica redução tanto na ingestão de ração padrão quanto na ingestão de água, enquanto a ingestão de refrigerante foi extremamente elevada. O acesso *ad libitum* aos alimentos sólidos palatáveis (alimentos da dieta de cafeteria) resultou em maior ingestão de sódio e num padrão alimentar caracterizado por elevada ingestão de carboidratos e lipídeos e baixa ingestão de proteínas. Esses aumentos de ingestão glicídica e lipídica levaram os animais expostos à dieta de cafeteria a manter uma ingestão energética total elevada e sustentada desde o desmame, em parte devido à maior ingestão de refrigerante que também causou uma redução da ingestão de alimentos sólidos. Como reflexo desse padrão alimentar rico em energia, os animais expostos à dieta de cafeteria apresentaram maior peso corporal, aumento da massa de tecido adiposo visceral e maior peso do fígado, embora tenham apresentado uma redução do peso ovariano ao final do experimento. Esse conjunto de obesidade e um padrão alimentar de baixo valor nutricional resultou em maiores níveis de PAS, resistência insulínica e hiperinsulinemia, mas com concentrações glicêmicas ainda adequadas. Contudo, o quadro apresentado pelos animais expostos à dieta de cafeteria não influenciou a regularidade do ciclo estral das fêmeas e o comportamento sexual.

A dieta de cafeteria provocou uma drástica redução tanto na ingestão de ração padrão quanto na ingestão de água na 26^a semana de experimento. Ao final do período experimental, os animais submetidos à dieta de cafeteria diminuíram a ingestão de ração padrão em aproximadamente três vezes e apresentaram uma ingestão de água quase quatro vezes menor. O acesso *ad libitum* aos alimentos sólidos palatáveis (alimentos da dieta de cafeteria) acabou resultando no dobro de ingestão de sódio, visto que as contribuições de sódio da ração padrão e refrigerante foram mínimas para a ingestão de sódio total. A ingestão de refrigerante contribuiu para 3,7% da ingestão de sódio total enquanto que o sódio contido nos sólidos palatáveis contribuiu para 86% do sódio total ingerido. O padrão alimentar apresentado pelos

animais expostos à dieta de cafeteria foi caracterizado por uma ingestão elevada de carboidratos e lipídeos, porém baixa em proteínas na 26ª semana de experimento. Esta ingestão de carboidratos foi qualitativamente composta por carboidratos refinados presentes tanto no refrigerante quanto em alimentos sólidos palatáveis, com uma pequena fração composta por carboidratos integrais presentes na ração padrão, enquanto que a elevada ingestão de lipídeos foi qualitativamente representada por gordura saturada presente nos alimentos sólidos palatáveis. Esses aumentos de ingestão glicídica e lipídica levaram os animais expostos à dieta de cafeteria a manter uma ingestão energética total elevada e sustentada desde o desmame que prosseguiu até o final do experimento. No sentido oposto à elevada ingestão energética total, a ingestão energética de sólidos (energia proveniente de alimentos sólidos da dieta de cafeteria e ração padrão sem refrigerante) mostrou uma tendência à redução progressiva com o decorrer do experimento, sendo possivelmente o reflexo do aumento sustentado da ingestão de refrigerante que ocorreu em paralelo desde o desmame.

Algumas questões podem ser levantadas para explicar as modificações da ingestão alimentar causada pela dieta de cafeteria no presente estudo. Primeiro, o presente estudo não permite concluir se a ingestão aumentada de refrigerante ou a ingestão de alimentos sólidos são responsáveis pela redução da ingestão de ração padrão, pois ambos foram oferecidos de forma conjunta. Por outro lado, a redução da ingestão de alimentos sólidos (ração padrão e alimentos da dieta de cafeteria) provavelmente foi o reflexo da ingestão de refrigerante, como demonstrado pelos resultados de menor ingestão energética de sólidos nos animais que receberam dieta de cafeteria. Esse fato significa que se não houvesse refrigerante, a ingestão energética de sólidos dos animais da dieta de cafeteria seria maior. Assim, parece que a ingestão de refrigerante contribuiu de forma importante tanto para a redução da ingestão de ração padrão quanto dos alimentos sólidos da dieta de cafeteria, além de aumentar a ingestão energética total. Em alguns estudos, animais que foram submetidos à dieta de cafeteria sem refrigerante tiveram uma redução da ingestão de ração padrão (Johnson & Kenny, 2010), assim como animais submetidos à ração padrão e refrigerante (Bukowiecki et. al., 1983) e submetidos à ração padrão, água e refrigerante, também reduziram a ingestão de ração padrão (Ogur et. al., 2007), sugerindo que no presente estudo tanto a ingestão dos alimentos sólidos da dieta de cafeteria quanto a ingestão de refrigerante possam ter influenciado a redução da ingestão de ração padrão.

A maior ingestão de refrigerante parece ser o resultado de sua alta palatabilidade, ao invés de ser o resultado de uma elevada ingestão de sódio, pois um grande consumo de refrigerante foi observado em ratos consumindo ração padrão e água (Ogur et. al., 2007). A preferência pela ingestão de refrigerante pode ter sido o resultado das características químicas do refrigerante, conhecido por conter em sua composição entre outras substâncias, sacarose ou xarope de milho com alta concentração de frutose (inglês: “High Fructose Corn Syrup” (HFCS)), dependendo do país de fabricação do refrigerante. A sacarose é um dissacarídeo altamente palatável, que quando ingerida em solução é capaz de aumentar as concentrações extracelulares de dopamina no núcleo accumbens (NAc) de forma proporcional à quantidade ingerida (Hajnal et. al., 2004). O NAc está localizado no estriado ventral e pertence ao sistema dopaminérgico mesolímbico, que é formado pelas projeções de neurônios dopaminérgicos com origem na área tegmental ventral para a porção “shell” e “core” do NAc (Floresco, 2007). Essa via é um componente chave do sistema de recompensa encefálico, que consiste de vias neuronais fortemente implicadas em mecanismos de recompensa e reforço das drogas de abuso, assim como de comportamentos vitais, incluindo a ingestão alimentar e o comportamento sexual (Volkow & Wise, 2005). Supostamente, a redução da ingestão de ração padrão pode ter sido o resultado de alterações nos mecanismos de recompensa causados pela dieta de cafeteria, pois já foi demonstrado que a exposição crônica à dieta de cafeteria diminui a sensibilidade dos sistemas de recompensa encefálico como resultado da menor expressão de receptores dopaminérgicos tipo 2 (DR2) no estriado ventral, com consequente comportamento de ingestão alimentar compulsivo, ganho de peso corporal e redução da ingestão de ração padrão em ratos (Johnson & Kenny, 2010). Por outro lado, a ingestão de ração padrão tem efeitos mínimos sobre a liberação de DA no NAc *in vivo*, quando comparada com a ingestão de uma ração palatável (Sahr et. al., 2008). Esse apetite exacerbado pelo refrigerante pode ter influenciado também a menor ingestão protéica observada nos animais submetidos à dieta de cafeteria por meio da redução da ingestão de alimentos sólidos, que eram as únicas fontes de proteínas disponíveis para os animais. Reduções na ingestão de proteína não são normalmente observada sem animais expostos somente à dieta de cafeteria sem refrigerante (Shafat et. al., 2009; Prats et. al, 1987), indicando que os efeitos da ingestão de refrigerante sobre a ingestão alimentar podem ser maiores do que apenas produzir aumento da ingestão de energia.

A maior ingestão de energia influenciou de forma importante o peso corporal dos animais submetidos à dieta de cafeteria desde o desmame, pois o peso corporal aumentou de

forma sustentada com o decorrer do experimento a partir da 5ª semana após a introdução da dieta de cafeteria e se manteve elevado até a 26ª semana de experimento, quando os animais apresentaram um peso corporal 20,7% maior que os animais controle. Esse aumento de peso corporal sustentado em animais submetidos à dieta de cafeteria foi acompanhado pelo aumento da massa de tecido adiposo visceral e do peso do fígado, embora a dieta de cafeteria tenha causado uma redução do peso ovariano ao final do experimento. Em animais, está bem documentado que a ingestão aumentada de energia resulta em aumento do peso corporal (Shafat et al., 2009) e aumento da massa de tecido adiposo visceral (Sampey et al., 2011). Em humanos, o aumento da ingestão de energia no Reino Unido entre 1986-2000 foi associado com o ganho de peso em mulheres adultas no mesmo período (Scarborough et. al., 2010). Nos momentos de abundância de energia, como foi observado desde o desmame nos animais submetidos à dieta de cafeteria, provavelmente ocorreu uma hipertrofia nos adipócitos como resultado do aumento da deposição de triglicérides (Guilherme et. al., 2008). Sob condições de elevada ingestão de energia, humanos e camundongos apresentam um aumento na expressão de enzimas que estão envolvidas na síntese de TG nos adipócitos, mantendo assim a alta capacidade para estocar o excesso de TG (Christianson et. al., 2008; Frayn et. al., 1994).

Os animais tratados com dieta de cafeteria apresentaram um nível de PAS superior em relação aos animais controle na 26ª semana de experimento. Esse aumento de PAS pode ser explicado pela maior ingestão de sódio observada nos animais do grupo exposto à dieta de cafeteria principalmente à custa da ingestão de alimentos sólidos palatáveis. Experimentalmente, a ingestão elevada de sódio causou aumento significativo na PA de ratos usados como modelo animal de DM2 (Matsumoto et. al., 2009). A ingestão de alimentos ricos em sódio está associada com níveis elevados de pressão arterial em humanos. No estudo INTERSALT, um estudo epidemiológico global que avaliou as relações entre a ingestão/excreção de sódio e pressão arterial (PA), aumentos da ingestão de sódio foram associados a aumentos de PA (Stamler, 1997; Stamler et. al., 1989). No ensaio clínico randomizado que empregou uma alimentação com baixa quantidade de sódio e outra com elevada quantidade de sódio por 6 semanas em indivíduos normotensos, foram observados aumentos significativos na PA central medida na carótida nos indivíduos com maior ingestão de sódio (Starmans-Kool et. al., 2011). Assim, é possível que a maior ingestão de sódio observada em animais que consumiram alimentos sólidos palatáveis tenha contribuído para a elevação da PAS.

A regularidade do ciclo estral das fêmeas submetidas à dieta de cafeteria não foi influenciada pela exposição à dieta de cafeteria no espaço de tempo avaliado no presente estudo. Tanto o número de ciclos quanto a duração média do ciclo foram semelhantes entre os grupos, com exceção da duração média de uma das fases do ciclo, onde a exposição à dieta de cafeteria provocou uma duração maior da fase de metaestro. Em ratas com obesidade induzida por dieta com elevada quantidade de gordura, a duração média do ciclo estral aumentou devido ao aumento da duração de fases diestro e proestro e estas fêmeas apresentaram alterações dos hormônios sexuais (Akamine et. al., 2010). No presente estudo, contudo, uma análise do perfil dos hormônios sexuais na tarde do proestro poderia ter sido uma forma mais acurada de avaliar alterações hormonais decorrentes da obesidade em animais expostos à dieta de cafeteria. Da mesma forma que a regularidade do ciclo estral, o comportamento sexual das fêmeas não foi afetado pela exposição à dieta de cafeteria

Nos animais submetidos à dieta de cafeteria, as concentrações plasmáticas de glicose de jejum foram mantidas em valores semelhantes aos animais controle, porém estes animais apresentaram resistência insulínica e concentrações plasmáticas de insulina de jejum elevadas na 26ª semana de experimento. Essa elevação na concentração plasmática de insulina de jejum provavelmente foi um mecanismo compensatório encontrado pelo organismo para manter concentrações adequadas de glicose em um estado de menor sensibilidade à insulina, como observado pelo maior HOMA-IR, uma medida indireta da resistência à insulina. Em indivíduos com resistência à insulina que ainda não progrediram para o DM2, o controle das concentrações plasmáticas de glicose de jejum dentro das faixas normais é mantido por um aumento compensatório na secreção de insulina pelas células β -pancreáticas, o que parece contribuir para a falência da glândula e o estabelecimento do quadro de DM2 (Kahn, 2003; Butler et. al., 2003; Rhodes, 2005). O aumento da massa de tecido adiposo visceral observado nos animais tratados com dieta de cafeteria pode ter influenciado o aumento da resistência à insulina, pois tanto em humanos quanto em animais a perda e o ganho de peso foram correlacionados com a diminuição e o aumento da resistência à insulina no músculo esquelético, respectivamente (Sims et. al., 1973; Freidenberg et. al., 1988). Atualmente, o tecido adiposo visceral é reconhecido por ser um órgão endócrino que secreta um número considerável de moléculas as quais regulam uma série de processos fisiológicos incluindo a homeostase energética (apetite, termogênese, comportamento alimentar), respostas inflamatórias, angiogênese, pressão arterial e função reprodutiva (Trayhurn, 2005; Sethi & Vidal-Puig, 2007). Em cultura de células assim com em organismos intactos, o TNF- α

secretado pelo tecido adiposo induziu resistência à insulina, ao menos em parte, por inibir a sinalização intracelular do receptor de insulina (Feinstein et. al., 1993; Hotamisligil et. al., 1994). Por outro lado, a ingestão de alimentos de elevado índice glicêmico, como o refrigerante, estimulam a maior liberação de insulina no momento pós-prandial devido ao aumento da glicemia (Jenkins et. al., 1987; Miller, 1994). Em ratos saudáveis, a hiperinsulinemia produzida por meio de tratamento com insulina diminui a sensibilidade à insulina no músculo esquelético (Cusin et. al., 1992). Assim, tanto o tecido adiposo quanto a ingestão de carboidratos refinados de alto índice glicêmico podem ter contribuído para a resistência insulínica observada nos animais submetidos à dieta de cafeteria.

O grande número de casos de obesidade, principalmente nos Estados Unidos, parece ser o resultado de mudanças nos alimentos, nos hábitos alimentares e nos níveis de atividade física. Atualmente, um em cada quatro americanos realiza suas refeições em “fast-food”, um hábito alimentar relacionado com baixo consumo de frutas, cereais e vegetais, assim como um alto consumo de carnes, batata frita, refrigerantes e bebidas adoçadas, tanto em adultos quanto em crianças (Bowman et. al., 2004; Paeratakul et. al., 2003; Schröder et al., 2007). Nas últimas décadas, o consumo de refrigerante aumentou de forma considerável (Nielsen & Popkin, 2004), sendo que seu consumo parece estar associado de forma positiva com a ingestão de alimentos industrializados e de forma negativa com a ingestão de frutas, vegetais, grãos, peixes e frutos do mar, arroz, ovos e batata (Yamada et. al., 2008). Indivíduos que frequentam “fast-food” apresentam maior ingestão de sódio (Paeratakul et. al., 2003), carboidratos refinados, gordura saturada (Bowman et. al., 2004; Paeratakul et. al., 2003) e ingestão energética diária total, comparados com aqueles que não frequentam “fast-food” (Lin & Frazão, 1999; Lin & Frazão, 1997).

As mudanças nos hábitos alimentares parecem refletir sobre o peso corporal, uma vez que o consumo em “fast-food” está associado de forma positiva com maiores níveis de IMC e risco de aumento de peso corporal em adultos (Schröder et al., 2007; Pereira et. al., 2005). O livre acesso aos alimentos comercializados em “fast-foods” causou aumento de peso corporal significativo em homens e mulheres, principalmente pelo aumento da deposição de massa adiposa na região abdominal, além de aumento das concentrações plasmáticas de insulina e do HOMA-IR (Erlingsson et. al., 2009). Complicações como resistência insulínica parecem estar associadas com o consumo de carboidratos refinados (Radhika et. al., 2009) e gordura saturada (Anderson et. al., 2009), assim como pela ação dos produtos liberados pelo

tecido adiposo que atuam no músculo esquelético aumentando a resistência à insulina (Guilherme et. al., 2008).

6.2 Experimento 2: *Efeito da modificação alimentar e/ou exercício por 8 semanas sobre os desfechos produzidos pela dieta de cafeteria.*

A retirada da dieta de cafeteria por 8 semanas com substituição por um método de modificação alimentar resultou em ingestão de ração padrão abaixo de um consumo controle, porém a ingestão de água e a ingestão de sódio foram adequadas. Da mesma forma, a ingestão de carboidratos, proteínas e lipídeos se apresentou favorável, pois foi semelhante aos animais controle, o que conseqüentemente levou os animais à ingestão energética capaz de manter um peso corporal, uma massa de tecido adiposo visceral e peso de fígado também adequado, contrário ao que se observou em animais que permaneceram recebendo dieta de cafeteria. Em relação ao peso ovariano não foram observadas mudanças significativas ao final do experimento 2 entre animais recendo dieta de cafeteria e animais controle, contrário do que se observou após 26 semanas de tratamento. Neste caso é possível que com o passar do tempo os animais controles tenham sofrido reduções naturais no peso ovariano, sendo semelhante aos animais tratados com dieta de cafeteria ao final do experimento 2. Com relação à PA, também não foi observada diferença entre animais controles e tratados com dieta de cafeteria ao final do experimento 2, provavelmente pela maior dispersão dos dados de PA nos animais recebendo apenas dieta de cafeteria. Assim, no experimento 2 não foi possível avaliar a magnitude da retirada da dieta de cafeteria sobre o peso ovariano e PA. Com a retirada da dieta de cafeteria por apenas 8 semanas, as concentrações plasmáticas de insulina foram semelhantes aos animais controle com a manutenção de uma sensibilidade à insulina também em um nível controle, diferente do que tinha sido observado no experimento 1. Sendo assim, a modificação alimentar durante 8 semanas por meio da retirada da dieta de cafeteria foi efetiva em mudar tanto o padrão alimentar quanto os desfechos produzidos pela dieta de cafeteria ao longo de 26 semanas.

A modificação alimentar por meio da substituição da dieta de cafeteria permitiu aos animais terem acesso exclusivo à ração padrão, o que conseqüentemente causou um aumento de consumo desse item alimentar em relação ao que tinha sido observado após 26 semanas de

tratamento, embora no experimento 2 a ingestão de ração padrão comparada aos animais controle tenha sido ligeiramente inferior. Porém, esse fato não impediu os animais de manterem uma ingestão de carboidratos, proteínas, lipídeos e sódio adequada, indicando que a retirada da dieta de cafeteria foi suficiente para causar um padrão alimentar de melhor qualidade nutricional. A ingestão de ração padrão ligeiramente inferior observada com a retirada da dieta de cafeteria, pode ter sido o resultado da menor palatabilidade da ração padrão em comparação ao refrigerante e aos alimentos da dieta de cafeteria. A falta destes alimentos pode ter provocado menor motivação para a ingestão de ração padrão, mesmo após 8 semanas de substituição da dieta de cafeteria. Esse fato tem sido observado em experimentos que retiram a dieta de cafeteria após acesso crônico e os animais passam então a ingerir apenas ração padrão. Nestes experimentos, os animais apresentam menor ingestão energética quando expostos somente à ração padrão, sendo que paralelamente eles possuem limiares de recompensa encefálicos aumentados como os observados quando tinham acesso à dieta de cafeteria (Johnson & Kenny, 2010). Assim, a manutenção de limiares de recompensa aumentados pode influenciar a ingestão de alimentos que não causam as mesmas sensações de prazer provocadas pelos alimentos da dieta de cafeteria.

O novo padrão de ingestão de energia com a modificação alimentar proporcionou aos animais a utilização dos estoques de energia acumulados sob a forma de tecido adiposo visceral ao longo da exposição à dieta de cafeteria, o que culminou em um peso de tecido adiposo e do fígado igual aos animais controles após 8 semanas sem dieta de cafeteria. A modificação alimentar com a retirada de alimentos palatáveis industrializados e a manutenção do acesso à ração padrão *ad libitum* mostrou que mesmo sendo obesos a ingestão energética dos animais não foi no sentido de manter o peso corporal alcançado devido ao consumo da dieta de cafeteria. Esse fato contrasta com abordagens que restringem voluntariamente a ingestão alimentar, onde os animais diminuem o gasto energético de repouso na tentativa de manter o peso corporal e aumentam a ingestão energética após o fim da restrição alimentar. Em humanos, um padrão de ingestão alimentar conhecido por dieta paleolítica preconiza a ingestão *ad libitum* de alimentos tais como nozes, vegetais, frutas, carnes magras, peixe e ovos como forma efetiva de reduzir a ingestão energética, uma vez que tal prática foi capaz de aumentar a sensação de saciedade e promover menor ingestão energética (Jönsson et. al., 2010).

A melhora do padrão de secreção de insulina parece ter sido o resultado da diminuição da resistência à insulina observada por meio do HOMA-IR com a modificação alimentar. Essa

diminuição da resistência insulínica por sua vez pode ter sido o reflexo tanto da redução do tecido adiposo visceral quanto da qualidade nutricional da alimentação ingerida a partir da retirada da dieta de cafeteria, pois com a redução do tecido adiposo visceral pode ter ocorrido redução nas concentrações plasmáticas de TNF- α , uma citocina secretada pelo tecido adiposo que parece causar resistência à insulina, ao menos em parte, por inibir a sinalização intracelular do receptor de insulina (Feinstein et. al., 1993; Hotamisligil et. al., 1994). Por outro lado, a retirada de alimentos de elevado índice glicêmico, como o refrigerante, e o consumo de uma alimentação contendo carboidratos complexos a partir da ração padrão, provavelmente provocaram uma liberação de insulina em níveis adequados no momento pós-prandial em resposta às pequenas elevações da glicemia geradas pela ingestão de carboidratos com baixo índice glicêmico.

A aplicação de exercício físico por 8 semanas associado à modificação alimentar causou um aumento na ingestão de ração padrão, porém quando associado à dieta de cafeteria o exercício não exerceu efeito algum sobre a ingestão de ração padrão. De maneira oposta, o exercício físico associado tanto à modificação alimentar quanto à dieta de cafeteria aumentou a ingestão de água, porém associado à dieta de cafeteria também elevou ligeiramente a ingestão de refrigerante. Esse efeito do exercício sobre a ingestão de líquidos pode ter sido uma tentativa do organismo de manter a osmolaridade plasmática dentro de valores fisiológicos, uma vez que o exercício causa perda de água e aumenta a pressão osmótica extracelular ativando os mecanismos de sede e a busca pela ingestão de líquido. Já em relação à ingestão de sódio, animais submetidos à modificação alimentar associada ao exercício físico apresentaram um aumento na ingestão de sódio que foi basicamente o reflexo da maior ingestão da ração padrão. A ingestão de carboidratos foi influenciada pelo exercício físico tanto associado à dieta de cafeteria quanto associado à modificação alimentar, pois foi observado aumento da ingestão desse macronutriente, enquanto que a ingestão protéica somente foi aumentada pelo exercício associado à modificação alimentar, porém independentemente do tipo de alimentação, a ingestão lipídica não foi influenciada pelo exercício.

O aumento da ingestão de carboidratos e proteínas provocado pelo exercício físico associado à modificação alimentar, assim como o aumento da ingestão de carboidratos provocado pelo exercício associado à dieta de cafeteria levou a um aumento da ingestão energética, porém sem afetar o peso corporal, o peso do fígado e o peso do tecido adiposo visceral em ambos os casos. A questão do aumento de energia causado pelo exercício no

presente estudo vai de encontro a alguns estudos que demonstram que o exercício não aumenta a fome e a ingestão energética (King et. al., 1997), assim como ratos obesos ingerindo alimentação palatável reduzem a ingestão alimentar em relação aos ratos obesos que não praticaram exercício físico (Wang et. al., 2008). Não foi possível avaliar a magnitude do efeito do exercício independentemente do tipo de alimentação sobre o peso ovariano e a PA, pois as alterações provocadas pela dieta de cafeteria na 26^a semana não foram observadas ao final do experimento 2. Em relação ao peso ovariano é possível que com o passar do tempo os animais controles tenham sofrido reduções naturais no peso ovariano, sendo semelhante aos animais tratados com dieta de cafeteria ao final do experimento 2. Com relação a PA, também não foi observada diferença entre animais controles e tratados com dieta de cafeteria ao final do experimento 2, provavelmente pela maior dispersão dos dados de PA nos animais recebendo apenas dieta de cafeteria. A regularidade do ciclo estral e o comportamento sexual não se mostraram alterados pela dieta de cafeteria no experimento 2, assim como no experimento 1, sendo assim, não foi possível avaliar os efeitos do exercício independentemente do tipo alimentar sobre estes parâmetros.

Ao final de 8 semanas de exercício físico associado tanto à modificação alimentar quanto à dieta de cafeteria, a sensibilidade à insulina avaliada por meio do HOMA-IR mostrou melhoras importantes, assim como as concentrações plasmáticas de insulina de jejum. Essa redução nas concentrações plasmáticas de insulina mediada pelo exercício físico mesmo em animais submetidos à dieta de cafeteria foi provavelmente uma consequência da diminuição da resistência insulínica nos tecidos periféricos. O exercício físico tem sido implicado na melhora da resistência insulínica por meio do aumento da expressão de receptores de glicose tipo 4 (GLUT4) no músculo esquelético (Christ-Roberts et. al., 2004; Wang et al., 2009), levando ao aumento do transporte de glicose para o citosol e reduzindo assim o estímulo para a célula β -pancreática secretar insulina. Além disso, tem sido observado que o exercício aumenta a ação da insulina nas células por afetar a regulação transcricional do IRS-1 (Sato et. al., 2003; Sigal et. al., 2004) e parece melhorar a via de sinalização intracelular estimulada pela insulina. Dessa forma, o exercício físico teve um efeito protetor sobre animais recebendo dieta de cafeteria e parece ser uma ferramenta terapêutica no tratamento de doenças como o DM2, caracterizada por resistência insulínica.

Assim, estes resultados indicam a importância da modificação das alimentar para o tratamento da obesidade e complicações metabólicas associadas como a resistência insulínica e sugere que as campanhas de saúde enfatizem as intervenções alimentares como primeira

linha de tratamento para obesidade, assim como o exercício para portadores de obesidade com a finalidade de prevenir o surgimento do DM2.

7. CONCLUSÃO

O presente trabalho concluiu que a exposição à alimentação industrializada representada pela dieta de cafeteria provocou obesidade e alterações metabólicas após longo período de exposição, sendo que ao contrário do que é amplamente recomendado, a mudança alimentar sozinha, sem restrição calórica e sem exercício foi capaz de reverter os desfechos produzidos pela dieta de cafeteria em curto prazo. Além disso, conclui-se que o exercício foi capaz de causar um aumento na sensibilidade à insulina mesmo em ratos obesos resistentes à insulina e ingerindo uma alimentação industrializada e de baixo valor nutricional. Tais achados podem contribuir para a prevenção do desenvolvimento do DM2 em indivíduos obesos e como medida terapêutica no tratamento de indivíduos que já apresentam resistência insulínica.

REFERÊNCIAS

ADA - American Diabetes Association. Diabetes Statistics. Disponível em [http://www.diabetes.org/diabetes-basics/diabetes-statistics/?utm_source=WWW &utm_medium=DropDownDB&utm_content=Statistics&utm_campaign=COM](http://www.diabetes.org/diabetes-basics/diabetes-statistics/?utm_source=WWW&utm_medium=DropDownDB&utm_content=Statistics&utm_campaign=COM). Acessado em 02/04/2011.

Aguilera AA, Díaz GH, Barcelata ML, Guerrero OA, Ros RM. Effects of fish oil on hypertension, plasma lipids, and tumor necrosis factor-alpha in rats with sucrose-induced metabolic syndrome J Nutr Biochem. 2004 Jun; 15(6):350-7.

Akamine EH, Marçal AC, Camporez JP, Hoshida MS, Caperuto LC, Bevilacqua E et. al. Obesity induced by high-fat diet promotes insulin resistance in the ovary. J Endocrinol. 2010 Jul; 206(1):65-74.

Alberti KGMM, Zimmet P, Shaw J. Metabolic syndrome—a new world-wide definition. A consensus statement from the International Diabetes Federation. Diabet Med. 2006 May; 23(5):469-80.

Aleixandre de Artiñano A & Miguel Castro M. Experimental rat models to study the metabolic syndrome. Br J Nutr. 2009 Nov; 102(9):1246-53.

Anderson EJ, Lustig ME, Boyle KE, Woodlief TL, Kane DA et. al. Mitochondrial H₂O₂ emission and cellular redox state link excess fat intake to insulin resistance in both rodents and humans. J Clin Invest. 2009 Mar; 119(3):573-81.

Anderson JW, Konz EC, Frederich RC, Wood CL. Long-term weight-loss maintenance: a meta-analysis of U.S. studies. Am J Clin Nutr. 2001 Nov; 74(5):579-84.

Bailey CJ, Flatt PR, Kwasowski P, Powell CJ, Marks V. Immunoreactive gastric inhibitory polypeptide and K cell hyperplasia in obese hyperglycaemic (ob/ ob) mice fed high fat and high carbohydrate cafeteria diets. Acta Endocrinol (Copenh). 1986 Jun; 112(2):224-9.

Baker MA & Horvath SM (1964). Influence of water temperature on oxygen uptake by swimming rats. *J Appl Physiol*. 1964 Nov; 19:1215-8.

Bes-Rastrollo M, van Dam RM, Martinez-Gonzalez MA, Li TY, Sampson LL, Hu FB. Prospective study of dietary energy density and weight gain in women. *Am J Clin Nutr*. 2008 Sep; 88(3):769-77.

Biddle SJ, Gorely T, Marshall SJ, Cameron N. The prevalence of sedentary behavior and physical activity in leisure time: a study of Scottish adolescents using ecological momentary assessment. *Prev Med*. 2009 Feb; 48(2):151-5.

Black RA, Rauch CT, Kozlosky CJ, Peschon JJ, Slack JL, Wolfson MF et al. A metalloproteinase disintegrin that releases tumour-necrosis factor-alpha from cells. *Nature*. 1997 Feb 20; 385(6618):729-33.

Blaustein MP, Zhang J, Chen L, Hamilton BP. How does salt retention raise blood pressure? *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2006 Mar; 290(3):R514-23.

Bodary PF & Eitzman DT. "Adiponectin: vascular protection from the fat?" *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2006 Feb; 26(2):235-6.

Bornstein SR, Abu-Asab M, Glasgow A, Path G, Hauner H, Tsokos M, et al. Immunohistochemical and ultrastructural localization of leptin and leptin receptor in human white adipose tissue and differentiating human adipose cells in primary culture. *Diabetes*. 2000 Apr; 49(4):532-8.

Bowman SA & Vinyard BT. Fast food consumption of U.S. adults: impact on energy and nutrient intakes and overweight status. *J Am Coll Nutr*. 2004 Apr; 23(2):163-8.

Bowman SA, Gortmaker SL, Ebbeling CB, Pereira MA, Ludwig DS. Effects of fast-food consumption on energy intake and diet quality among children in a national household survey. *Pediatrics*. 2004 Jan; 113(1 Pt 1):112-8.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Secretaria de Gestão Estratégica e Participativa. *Vigitel Brasil 2009: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico*/Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Secretaria de Gestão Estratégica e Participativa. – Brasília : Ministério da Saúde, 2010.

Brownson RC, Boehmer TK, Luke DA. Declining rates of physical activity in the United States: what are the contributors? *Annu Rev Public Health*. 2005; 26:421-43.

Bukowiecki LJ, Lupien J, Folléa N, Jahjah L. Effects of sucrose, caffeine, and cola beverages on obesity, cold resistance, and adipose tissue cellularity. *Am J Physiol*. 1983 Apr; 244(4):R500-7.

Butler AA, Marks DL, Fan W, Kuhn CM, Bartolome M, Cone RD: Melanocortin-4 receptor is required for acute homeostatic responses to increased dietary fat. *Nat Neurosci*. 2001 Jun; 4(6):605-11.

Butler AE, Janson J, Bonner-Weir S, Ritzel R, Rizza RA, Butler PC. β -cell deficit and increased β -cell apoptosis in humans with type 2 diabetes. *Diabetes*. 2003 Jan; 52(1):102-10.

Calles-Escandón J, Horton ES. The thermogenic role of exercise in the treatment of morbid obesity: a critical evaluation. *Am J Clin Nutr*. 1992 Feb; 55(2 Suppl):533S-537S.

Cancello R, Tordjman J, Poitou C, Guilhem G, Bouillot JL, Hugol D, et al. Increased infiltration of macrophages in omental adipose tissue is associated with marked hepatic lesions in morbid human obesity. *Diabetes*. 2006 Jun; 55(6):1554-61.

Carey VJ, Walters EE, Colditz GA et al. Body fat distribution and risk of non-insulin-dependent diabetes mellitus in women. The Nurses' Health Study. *Am J Epidemiol*. 1997 Apr 1; 145(7):614-9.

Cawthorn WP & Sethi JK. TNF- α and adipocyte biology. *FEBS Lett*. 2008 Jan 9; 582(1):117-31.

Centers for Disease Control and Prevention. Trends in intake of energy and macronutrients—United States, 1971-2000. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2004 Feb 6; 53(4):80-2.

Chan JM, Rimm EB, Colditz GA, Stampfer MJ, Willett WC. Obesity, fat distribution, and weight gain as risk factors for clinical diabetes in men. *Diabetes Care.* 1994 Sep; 17(9):961-9.

Chen AS, Metzger JM, Trumbauer ME, Guan XM, Yu H, Frazier EG et. al. Role of the melanocortin-4 receptor in metabolic rate and food intake in mice. *Transgenic Res.* 2000 Apr; 9(2):145-54.

Christianson JL, Nicoloso S, Straubhaar J, Czech MP. Stearoyl-CoA desaturase 2 is required for peroxisome proliferator-activated receptor gamma expression and adipogenesis in cultured 3T3-L1 cells. *J Biol Chem.* 2008 Feb 1; 283(5):2906-16.

Christ-Roberts CY, Pratipanawatr T, Pratipanawatr W, Berria R, Belfort R, Kashyap S et. al. Exercise training increases glycogen synthase activity and GLUT4 expression but not insulin signaling in overweight nondiabetic and type 2 diabetic subjects. *Metabolism.* 2004 Sep; 53(9):1233-42.

Colditz GA, Willett WC, Rotnitzky A, Manson JE. Weight gain as a risk factor for clinical diabetes mellitus in women. *Ann Intern Med.* 1995 Apr 1; 122(7):481-6.

Cornelius P, MacDougald OA, Lane MD. Regulation of adipocyte development. *Annu Rev Nutr.* 1994; 14:99-129.

Curat C.A., Miranville A., Sengenès C., Diehl M., Tonus C., Busse R., et al. From blood monocytes to adipose-tissue-resident macrophages: induction of diapedesis by human mature adipocytes. *Diabetes.* 2004 May; 53(5):1285-92.

Curat C.A., Wegner V., Sengenès C., Miranville A., Tonus C., Busse R., et al. Macrophages in the human visceral adipose tissue: increased accumulation with obesity and source of resistin and visfatin. *Diabetologia.* 2006 Apr; 49(4):744-7.

Cusin I, Rohner-Jeanrenaud F, Terretaz J, Jeanrenaud B. Hyperinsulinemia and its impact on obesity and insulin resistance. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 1992 Dec; 16 Suppl 4:S1-11.

Cutler DM, Glaeser EL, Shapiro JM. Why have Americans become so obese? *J Econ Perspect*. 2003, 17:93–118.

Dameto MC, Rayo JM, Esteban S, Prieto RM, Tur JA. Effect of cafeteria diet on alpha-MG intestinal absorption in rats. *Comp Biochem Physiol Comp Physiol*. 1994 Jun-Jul; 108(2-3):467-70.

De Schepper J, Zhou X, De Bock, Smits SJ, Louis O, Hooghe-Peters E et al. Study of serum leptin in cafeteria-diet-overfed rats: Influence of diet, insulin and corticosterone. *Horm Res*. 1998; 50(5):271-5.

Devine A, Criddle RA, Dick IM, Kerr DA, Prince RL. A longitudinal study of the effect of sodium and calcium intakes on regional bone density in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr*. 1995 Oct; 62(4):740-5.

Ebbeling CB, Pawlak DB, Ludwig DS. Childhood obesity: public-health crisis, common sense cure. *Lancet*. 2002 Aug 10; 360(9331):473-82.

Erlingsson S, Herard S, Dahlqvist Leinhard O, Lindström T, Länne T, Borga M et. al. Fast Food Study Group. Men develop more intraabdominal obesity and signs of the metabolic syndrome after hyperalimentation than women. *Metabolism*. 2009 Jul; 58(7):995-1001.

Esposito K, Di Palo C, Maiorino MI, Petrizzo M, Bellastella G, Siniscalchi I et. al. Long-term effect of mediterranean-style diet and calorie restriction on biomarkers of longevity and oxidative stress in overweight men. *Cardiol Res Pract*. 2010 Dec 20; 2011:293916.

Fain JN, Bahouth SW and Madan AK. TNF-alpha release by the nonfat cells of human adipose tissue. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2004 Apr; 28(4):616-22.

Fajas L. Adipogenesis: a cross-talk between cell proliferation and cell differentiation. *Ann Med*. 2003; 35(2):79-85.

Farmer, SR. Molecular determinants of brown adipocyte formation and function. *Genes Dev.* 2008 May 15; 22(10):1269-75.

Faul LA, Jim HS, Minton S, Fishman M, Tanvetyanon T, Jacobsen PB. Relationship of Exercise to Quality of Life in Cancer Patients Beginning Chemotherapy. *J Pain Symptom Manage.* 2011 May; 41(5):859-69.

Feinstein R, Kanety H, Papa MZ, Lunenfeld B, Karasik A. Tumor necrosis factor- α suppresses insulin-induced tyrosine phosphorylation of insulin receptor and its substrates. *J Biol Chem.* 1993 Dec 15; 268(35):26055-8.

Flegal KM, Carroll MD, Ogden CL, Curtin LR. Prevalence and trends in obesity among US adults, 1999-2008. *JAMA.* 2010 Jan 20; 303(3):235-41.

Flegal KM, Graubard BI, Williamson DF, Gail MH. Cause-specific excess deaths associated with underweight, overweight, and obesity. *JAMA.* 2007 Nov 7; 298(17):2028-37.

Floresco SB. Dopaminergic regulation of limbic-striatal interplay. *J Psychiatry Neurosci.* 2007 Nov; 32(6):400-11.

Foster-Powell K, Miller JB. International tables of glycemic index. *Am J Clin Nutr.* 1995 Oct; 62(4):871S-890S.

Franssen R, Monajemi H, Stroes ES, Kastelein JJ. Obesity and dyslipidemia. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2008 Sep; 37(3):623-33, viii.

Frayn KN, Shadid S, Hamrani R, Humphreys SM, Clark ML, Fielding BA et. al. Regulation of fatty acid movement in human adipose tissue in the postabsorptive-to-postprandial transition. *Am J Physiol.* 1994 Mar; 266(3 Pt 1):E308-17.

Freidenberg GR, Reichart D, Olefsky JM, Henry RR. Reversibility of defective adipocyte insulin receptor kinase activity in non-insulin-dependent diabetes mellitus. Effect of weight loss. *J Clin Invest.* 1988 Oct; 82(4):1398-406.

French SA, Harnack LJ, Jeffery RW. Fast food restaurant use among women in the pound of prevention study: Dietary, behavioral and demographic correlates. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2000 Oct; 24(10):1353-9.

French SA, Story M & Jeffery RW. Environmental influences on eating and physical activity. *Annu Rev Public Health.* 2001; 22:309-35.

Galani C & Schneider H. Prevention and treatment of obesity with lifestyle interventions: review and meta-analysis. *Int J Public Health.* 2007; 52(6):348-59.

Garcia-Diaz DF, Arellano AV, Milagro FI, Moreno-Aliaga MJ, Portillo MP, Martinez JA et. al. Glucose and insulin modify thrombospondin 1 expression and secretion in primary adipocytes from diet-induced obese rats. *J Physiol Biochem.* 2011 Sep; 67(3):453-61.

Gianotti M, Roca P, Palou A. Body weight and tissue composition in rats made obese by a cafeteria diet. Effect of 24 hours starvation. *Horm Metab Res.* 1988 Apr; 20(4):208-12.

Gregoire F. Adipocyte differentiation: from fibroblast to endocrine cell. *Exp Biol Med (Maywood).* 2001 Dec; 226(11):997-1002.

Gross LS, Li L, Ford ES, Liu S. Increased consumption of refined carbohydrates and the epidemic of type 2 diabetes in the United States: an ecologic assessment. *Am J Clin Nutr.* 2004 May; 79(5):774-9.

Guilherme A, Virbasius JV, Puri V, Czech MP. Adipocyte dysfunctions linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2008 May; 9(5):367-77.

Guthrie J, Lin BH, Frazao E. Role of food prepared away from home in the American diet, 1977-78 versus 1994-96: Changes and consequences. *J Nutr Educ Behav.* 2002 May-Jun; 34(3):140-50.

Hajnal A, Smith GP, Norgren R. Oral sucrose stimulation increases accumbens dopamine in the rat. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2004 Jan; 286(1):R31-7.

Hausman DB, DiGirolamo M, Bartness TJ, Hausman GJ, Martin RJ. The biology of white adipocyte proliferation. *Obes Rev.* 2001 Nov; 2(4):239-54.

Haynes WG, Morgan DA, Sivitz WI, Mark AL: Interactions between the melanocortin system and leptin in control of sympathetic nerve traffic. *Hypertension.* 1999 Jan; 33(1 Pt 2):542-7.

Hill JO. Understanding and Addressing the Epidemic of Obesity: An Energy Balance Perspective. *Endocr Rev.* 2006 Dec; 27(7):750-61.

Hirsch J, Batchelor B. Adipose tissue cellularity and human obesity. *Clin Endocrinol Metab.* 1976 Jul; 5(2):299-311.

Hopkins M, King NA, Blundell JE. Acute and long-term effects of exercise on appetite control: is there any benefit for weight control? *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2010 Nov; 13(6):635-40.

Hotamisligil GS, Murray DL, Choy LN, Spiegelman BM. Tumor necrosis factor alpha inhibits signaling from the insulin receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1994 May 24; 91(11):4854-8.

Hu FB, Li TY, Colditz GA, Willett WC, Manson JE. Television watching and other sedentary behaviors in relation to risk of obesity and type 2 diabetes mellitus in women. *JAMA.* 2003 Apr 9; 289(14):1785-91.

Hutley L, Prins JB. Fat as an endocrine organ: relationship to the metabolic syndrome. *Am J Med Sci.* 2005 Dec; 330(6):280-9.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2004). Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) 2002-2003. Análise da disponibilidade domiciliar de alimentos e do estado nutricional no Brasil. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. Disponível em <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pof/2002analise/analise.pdf> Acessado em 06/03/2011.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2010). Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009. Antropometria e Estado Nutricional de Crianças, Adolescentes e Adultos no Brasil. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. Disponível em http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pof/2008_2009_encaa/pof_20082009_encaa.pdf. Acessado em 06/03/2011.

Isganaitis E & Lustig RH. Fast food, central nervous system insulin resistance, and obesity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005 Dec; 25(12):2451-62.

Jakicic JM, Otto AD. Treatment and prevention of obesity: what is the role of exercise? *Nutr Rev.* 2006 Feb; 64(2 Pt 2):S57-61.

Jeffery RW, Drewnowski A, Epstein LH, Stunkard AJ, Wilson GT, Wing RR et. al. Long-term maintenance of weight loss: current status. *Health Psychol.* 2000 Jan; 19(1 Suppl):5-16.

Jenkins DJ, Wolever TM, Collier GR, Ocana A, Rao AV, Buckley G et. al. Metabolic effects of a low-glycemic-index diet. *Am J Clin Nutr.* 1987 Dec; 46(6):968-75.

Johnson PM, Kenny PJ. Dopamine D2 receptors in addiction-like reward dysfunction and compulsive eating in obese rats. *Nat Neurosci.* 2010 May; 13(5):635-41.

Jönsson T, Granfeldt Y, Erlanson-Albertsson C, Åhrén B, Lindberg S. A paleolithic diet is more satiating per calorie than a mediterranean-like diet in individuals with ischemic heart disease. *Nutr Metab (Lond).* 2010 Nov 30; 7:85.

Jorge ML, de Oliveira VN, Resende NM, Paraiso LF, Calixto A, Diniz AL et. al. The effects of aerobic, resistance, and combined exercise on metabolic control, inflammatory markers, adipocytokines, and muscle insulin signaling in patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism.* 2011 Sep; 60(9):1244-52.

Kahn SE. The relative contributions of insulin resistance and β -cell dysfunction to the pathophysiology of Type 2 diabetes. *Diabetologia.* 2003 Jan; 46(1):3-19.

Kennedy AJ, Ellacott KL, King VL, Hasty AH. Mouse models of the metabolic syndrome. *Dis Model Mech*. 2010 Mar-Apr; 3(3-4):156-66.

King NA, Lluch A, Stubbs RJ, Blundell JE. High dose exercise does not increase hunger or energy intake in free living males. *Eur J Clin Nutr*. 1997 Jul; 51(7):478-83.

Kramer FM, Jeffery RW, Forster JL, Snell MK. Long-term follow-up of behavioral treatment for obesity: patterns of weight regain among men and women. *Int J Obes*. 1989; 13(2):123-36.

Kriegler M, Perez C, DeFay K, Albert I, Lu SD. A novel form of TNF/cachectin is a cell surface cytotoxic transmembrane protein: ramifications for the complex physiology of TNF. *Cell*. 1988 Apr 8;53 (1):45-53.

Kris-Etherton P, Yu S. Individual fatty acids on plasma lipids and lipoproteins: human studies. *Am J Clin Nutr*. 1997 May; 65(5 Suppl):1628S-1644S.

Lafontan M & Girard J. Impact of visceral adipose tissue on liver metabolism. Part I: heterogeneity of adipose tissue and functional properties of visceral adipose tissue. *Diabetes Metab*. 2008 Sep; 34(4 Pt 1):317-27.

Lau DC, Dhillon B, Yan H, Szmitko PE, Verma S. Adipokines: molecular links between obesity and atherosclerosis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2005 May; 288(5):H2031-41.

Ledikwe JH, Blanck HM, Kettel-Khan L, Serdula M, Seymour JD, Tohill BC, et al. Dietary energy density is associated with energy intake and weight status in US adults. *Am J Clin Nutr*. 2006 Jun; 83(6):1362-8.

Lin BH, Frazão E. *Away-From-Home Foods Increasingly Important to Quality of American Diet*. Washington, DC: United States Department of Agriculture Economic Research Service. 1999.

Lin BH, Frazão E. Nutritional quality of foods at and away from home. *Foodreview*. 1997; 20:33-40.

Lindeberg S, Jönsson T, Granfeldt Y, Borgstrand E, Soffman J, Sjöström K et. al. A Palaeolithic diet improves glucose tolerance more than a Mediterranean-like diet in individuals with ischaemic heart disease. *Diabetologia*. 2007 Sep; 50(9):1795-807.

Lofgren P, van Harmelen V, Reynisdottir S, Naslund E, Ryden M, Rossner S. Secretion of tumor necrosis factor-alpha shows a strong relationship to insulin stimulated glucose transport in human adipose tissue. *Diabetes*. 2000 May; 49(5):688-92.

Logue J, Thompson L, Romanes F, Wilson DC, Thompson J, Sattar N; Management of obesity: summary of SIGN guideline. *BMJ*. 2010 Feb 24; 340:c154.

MacGregor GA, De Wardener HE. *Salt, diet, and health*. Cambridge: Cambridge. 1998.

Maffei M, Halaas J, Ravussin E, Pratley RE, Lee GH, Zhang Y, et al. Leptin levels in human and rodent: measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight-reduced subjects. *Nat Med*. 1995 Nov; 1(11):1155-61.

Malik VS, Popkin BM, Bray GA, Després JP, Hu FB. Sugar-sweetened beverages, obesity, type 2 diabetes mellitus, and cardiovascular disease risk. *Circulation*. 2010 Mar 23; 121(11):1356-64.

Markou A, Koob GF. Postcocaine anhedonia. An animal model of cocaine withdrawal. *Neuropsychopharmacology*. 1991 Jan; 4(1):17-26.

Matsumoto M, Tsujino T, Naito Y, Sakoda T, Ohyanagi M, Nonaka H et. al. High salt intake elevated blood pressure but not changed circadian blood pressure rhythm in Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) rat. *Clin Exp Hypertens*. 2009 May; 31(3):271-80.

Matthews CE, Chen KY, Freedson PS, Buchowski MS, Beech BM, Pate RR, Troiano RP. Amount of time spent in sedentary behaviors in the United States, 2003-2004. *Am J Epidemiol*. 2008 Apr 1; 167(7):875-81.

Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. 1985 Jul; 28(7):412-9.

McCardle WD. Metabolic stress of endurance swimming in the laboratory rat. *J Appl Physiol*. 1967 Jan; 22(1):50-4.

McGee DL, Reed DM, Yano K, Kagan A, Tillotson J. Ten-year incidence of coronary heart disease in the Honolulu Heart Program. Relationship to nutrient intake. *Am J Epidemiol*. 1984 May; 119(5):667-76.

Medeiros C, Frederico MJ, da Luz G, Pauli JR, Silva AS, Pinho RA et. al. Exercise training reduces insulin resistance and upregulates the mTOR/p70S6k pathway in cardiac muscle of diet-induced obesity rats. *J Cell Physiol*. 2011 Mar; 226(3):666-74.

Melton SA, Hegsted M, Keenan MJ, Zhang Y, Morris S, Potter BL et. al. Swimming eliminates the weight gain and abdominal fat associated with ovariectomy in the retired breeder rat despite high-fat diet selection. *Appetite*. 2000 Aug; 35(1):1-7.

Miller JC. Importance of glycemic index in diabetes. *Am J Clin Nutr*. 1994 Mar; 59(3 Suppl):747S-752S.

Mohamed-Ali V, Goodrick S, Rawesh A, Katz DR, Miles JM, Yudkin JS et. al. Subcutaneous adipose tissue releases interleukin-6, but not tumor necrosis factor- α , in vivo. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997 Dec; 82(12):4196-200.

Murphy B, Nunes CN, Ronan JJ, Harper CM, Beall MJ, Hanaway M et. al. Melanocortin mediated inhibition of feeding behavior in rats. *Neuropeptides*. 1998 Dec; 32(6):491-7.

Nakagawa T, Ukai K, Ohyama T, Gomita Y, Okamura H. Effects of chronic administration of sibutramine on body weight, food intake and motor activity in neonatally monosodium glutamate-treated obese female rats: relationship of antiobesity effect with monoamines. *Exp Anim*. 2000 Oct; 49(4):239-49.

NHI- National Institutes of Health, National Heart, Lung and Blood Institute Clinical guidelines on the identification, evaluation, and treatment of overweight and obesity in adults: the evidence report. Rockville, MD: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service. 1998

NHI- National Research Council. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals; publication no. 85-23 (revised). Bethesda, MD: National Institutes of Health. 1985.

Nielsen SJ, Popkin BM. Changes in beverage intake between 1977 and 2001. *Am J Prev Med.* 2004 Oct; 27(3):205-10.

Nielsen SJ, Seiga-Riz AM, Popkin BM. Trends in food locations and sources among adolescents and young adults. *Prev Med.* 2002 Aug; 35(2):107-13.

Nohr EA, Timpson NJ, Andersen CS, Davey Smith G, Olsen J, Sørensen TI. Severe obesity in young women and reproductive health: the Danish National Birth Cohort. *PLoS One.* 2009 Dec 24; 4(12):e8444.

Oba S, Nagata C, Nakamura K, Fujii K, Kawachi T, Takatsuka N et. al. Dietary glycemic index, glycemic load, and intake of carbohydrate and rice in relation to risk of mortality from stroke and its subtypes in Japanese men and women. *Metabolism.* 2010 Nov; 59(11):1574-82.

Ogden CL, Carroll MD, Curtin LR, Lamb MM, Flegal KM. Prevalence of High Body Mass Index in US Children and Adolescents, 2007–2008. *JAMA.* 2010 Jan 20; 303(3):242-9.

Ogden CL, Carroll MD, McDowell MA, Flegal KM). Obesity among adults in the United States – no change since 2003—2004. NCHS data brief no 1. Hyattsville, MD: National Center for Health Statistics. 2007.

Ogur R, Uysal B, Ogur T, Yaman H, Oztas E, Ozdemir A et. al. Evaluation of the effect of cola drinks on bone mineral density and associated factors. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2007 May; 100(5):334-8.

Okamoto Y, Kihara S, Funahashi T, Matsuzawa Y, Libby P. Adiponectin: a key adipocytokine in metabolic syndrome. *Clin Sci (Lond)*. 2006 Mar; 110(3):267-78.

Orzano AJ, Scott JG. Diagnosis and treatment of obesity in adults: an applied evidence-based review. *J Am Board Fam Pract*. 2004 Sep-Oct; 17(5):359-69.

Owen N, Leslie E, Salmon J, Fotheringham MJ. Environmental determinants of physical activity and sedentary behavior. *Exerc Sport Sci Rev*. 2000 Oct; 28(4):153-8.

Paeratakul S, Ferdinand DP, Champagne CM, Ryan DH & Bray GA. Fast-food consumption among US adults and children: dietary and nutrient intake profile. *J Am Diet Assoc*. 2003 Oct; 103(10):1332-8.

Paffenbarger RS Jr, Wing AL, Hyde RT, Jung DL. Physical activity and incidence of hypertension in college alumni. *Am J Epidemiol*. 1983 Mar; 117(3):245-57.

Pasquali R, Pelusi C, Genghini S, Cacciari M, Gambineri A. Obesity and reproductive disorders in women. *Hum Reprod Update*. 2003 Jul-Aug; 9(4):359-72.

Pate RR, O'Neill JR, Lobelo, F. The evolving definition of "sedentary". *Exerc Sport Sci Rev*. 2008 Oct; 36(4):173-8.

Pereira MA, Kartashov AI, Ebbeling CB, Van Horn L, Slattery ML, Jacobs DR Jr et. al. Fast-food habits, weight gain, and insulin resistance (the CARDIA study): 15-year prospective analysis. *Lancet*. 2005 Jan 1-7; 365(9453):36-42.

Philipson T. The world-wide growth in obesity: an economic research agenda. *Health Econ*. 2001 Jan; 10(1):1-7.

Prats E, Monfar M, Castella J, Iglesias R, Alemany M. Energy intake of rats fed a cafeteria diet. *Physiol Behav*. 1989 Feb; 45(2):263-72.

Prentice AM, Jebb SA. Obesity in Britain: sloth or gluttony? *BMJ*. 1995 Aug 12; 311(7002):437-9.

Prins JB, O'Rahilly S. Regulation of adipose cell number in man. *Clin Sci (Lond)*. 1997 Jan; 92(1):3-11.

Putnam J. US food supply providing more food and calories. *Foodreview*. 1999; 22:2-12.

Radhika G, Van Dam RM, Sudha V, Ganesan A, Mohan V. Refined grain consumption and the metabolic syndrome in urban Asian Indians (Chennai Urban Rural Epidemiology Study 57). *Metabolism*. 2009 May; 58(5):675-81.

Redman LM, Heilbronn LK, Martin CK, Alfonso A, Smith SR, Ravussin E: Pennington CALERIE Team. Effect of calorie restriction with or without exercise on body composition and fat distribution. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007 Mar; 92(3):865-72.

Reid M, Hammersley R, Hill AJ, Skidmore P. Long-term dietary compensation for added sugar: effects of supplementary sucrose drinks over a 4-week period. *Br J Nutr*. 2007 Jan; 97(1):193-203.

Rhodes CJ . Type 2 diabetes—a matter of β -cell life and death? *Science*. 2005 Jan 21; 307(5708):380-4.

Rich-Edwards JW, Spiegelman D, Garland M, Hertzmark E, Hunter DJ, Colditz GA. Physical activity, body mass index, and ovulatory disorder infertility. *Epidemiology*. 2002 Mar; 13(2):184-90.

Rodriguez-Iturbe B, Romero F, Johnson RJ. Pathophysiological Mechanisms of Salt-Dependent Hypertension. *Am J Kidney Dis*. 2007 Oct; 50(4):655-72.

Rosen ED & Spiegelman BM. Adipocytes as regulators of energy balance and glucose homeostasis. *Nature*. 2006 Dec 14; 444(7121):847-53.

Rosen ED. The molecular control of adipogenesis, with special reference to lymphatic pathology. *Ann N Y Acad Sci*. 2002 Dec; 979:143-58.

Rothwell NJ & Stock MJ. Regulation of energy balance in two models of reversible obesity in the rat. *J Comp Physiol Psychol*. 1979 Dec; 93(6):1024-34.

Rydell SA, Harnack LJ, Oakes JM, Story M, Jeffery RW, French SA. Why eat at fast-food restaurants: reported reasons among frequent consumers. *J Am Diet Assoc*. 2008 Dec; 108(12):2066-70.

Sacks FM, Bray GA, Carey VJ, Smith SR, Ryan DH, Anton SD et al. Comparison of weight-loss diets with different compositions of fat, protein, and carbohydrates. *N Engl J Med*. 2009 Feb 26; 360(9):859-73.

Sahr AE, Sindelar DK, Alexander-Chacko JT, Eastwood BJ, Mitch CH, Statnick MA. Activation of mesolimbic dopamine neurons during novel and daily limited access to palatable food is blocked by the opioid antagonist LY255582. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2008 Aug; 295(2):R463-71.

Salmon J, Owen N, Crawford D, Bauman A, Sallis JF. Physical activity and sedentary behavior: a population based study of barriers, enjoyment, and preference. *Health Psychol*. 2003 Mar; 22(2):178-88.

Sampey BP, Vanhoose AM, Winfield HM, Freemerman AJ, Muehlbauer MJ, Fueger PT et al. Cafeteria diet is a robust model of human metabolic syndrome with liver and adipose inflammation: comparison to high-fat diet. *Obesity (Silver Spring)*. 2011 Jun; 19(6):1109-17.

Sato Y, Nagasaki M, Nakai N, Fushimi T. Physical exercise improves glucose metabolism in lifestyle-related diseases. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2003 Nov; 228(10):1208-12.

Scarborough P, Burg MR, Foster C, Swinburn B, Sacks G, Rayner M, Webster P, Allender S. Increased energy intake entirely accounts for increase in body weight in women but not in men in the UK between 1986 and 2000. *Br J Nutr*. 2011 May; 105(9):1399-404.

Schlosser E. *Fast Food Nation*. New York, NY: Houghton Mifflin Company. 2001

Schmidt M, Affenito SG, Striegel-Moore R, Khoury PR, Barton B, Crawford P et. al. Fast-food intake and diet quality in black and white girls: the National Heart, Lung, and Blood Institute Growth and Health Study. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 2005 Jul; 159(7):626-31.

Schröder H, Fito M, Covas MI; REGICOR investigators. Association of fast food consumption with energy intake, diet quality, body mass index and the risk of obesity in a representative Mediterranean population. *Br J Nutr.* 2007 Dec; 98(6):1274-80.

Schulze MB, Manson JE, Ludwig DS, Colditz GA, Stampfer MJ, Willett WC et. al. Sugar-sweetened beverages, weight gain, and incidence of type 2 diabetes in young and middle-aged women. *JAMA.* 2004 Aug 25; 292(8):927-34.

Sclafani A & Springer D. Dietary obesity in adult rats: Similarities to hypothalamic and human obesity syndromes. *Physiol Behav.* 1976 Sep; 17(3):461-71.

Scoaris CR, Rizo GV, Roldi LP, de Moraes SM, de Proença AR, Peralta RM et. al. Effects of cafeteria diet on the jejunum in sedentary and physically trained rats. *Nutrition.* 2010 Mar; 26(3):312-20.

Seidell JC, Pérusse L, Després JP, Bouchard C. Waist and hip circumferences have independent and opposite effects on cardiovascular disease risk factors: the Quebec Family Study. *Am J Clin Nutr.* 2001 Sep; 74(3):315-21.

Sethi JK & Vidal-Puig AJ. Thematic review series: adipocyte biology. Adipose tissue function and plasticity orchestrate nutritional adaptation. *J Lipid Res.* 2007 Jun; 48(6):1253-62.

Shafat A, Murray B, Rumsey D. Energy density in cafeteria diet induced hyperphagia in the rat. *Appetite.* 2009 Feb; 52(1):34-8.

Shimizu Y, Yamazaki M, Nakanish K, Sakurai M, Sanada A, Takewaki T et al. Enhanced responses of the chorda tympani nerve to sugars in the ventromedial hypothalamic obese rat. *J Neurophysiol.* 2003 Jul; 90(1):128-33.

Sigal RJ, Kenny GP, Wasserman DH, Castaneda-Sceppa C. Physical activity/exercise and type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2004 Oct; 27(10):2518-39.

Sims EA, Danforth E Jr, Horton ES, Bray GA, Glennon JA, Salans LB. Endocrine and metabolic effects of experimental obesity in man. *Recent Prog Horm Res*. 1973; 29:457-96.

Smas CM & Sul HS. Control of adipocyte differentiation. *Biochem J*. 1995 Aug 1; 309 (Pt 3):697-710.

Smyth MJ, Sparks RL, Wharton W. Proadipocyte cell lines: models of cellular proliferation and differentiation. *J Cell Sci*. 1993 Sep; 106 (Pt 1):1-9.

Sodersten P & Hansen S. Effects of oestradiol and progesterone on induction and duration of sexual receptivity in cyclic female rats. *J Endocrinol*. 1977 Sep; 74(3):477-85.

Sørensen TI. Conference on "Multidisciplinary approaches to nutritional problems". Symposium on "Diabetes and health". Challenges in the study of causation of obesity. *Proc Nutr Soc*. 2009 Feb; 68(1):43-54.

Stamler J, Rose G, Stamler R, Elliott P, Dyer A, Marmot M. INTERSALT study findings. Public health and medical care implications. *Hypertension*. 1989 Nov; 14(5):570-7.

Stamler J. The INTERSALT Study: background, methods, findings, and implications. *Am J Clin Nutr*. 1997 Feb; 65(2 Suppl):626S-642S.

Starmans-Kool MJ, Stanton AV, Xu YY, McG Thom SA, Parker KH, Hughes AD. High dietary salt intake increases carotid blood pressure and wave reflection in normotensive healthy young men. *J Appl Physiol*. 2011 Feb; 110(2):468-71.

Stewart H, Blisard N, Jolliffe D. Let's eat out: Americans weigh taste, convenience, and nutrition. Washington, DC: United States Department of Agriculture Economic Research Service. 2006.

Stubbs J, Ferres S, Horgan G. Energy density of foods: effects on energy intake. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2000 Nov; 40(6):481-515.

Stumvoll M, Goldstein BJ, van Haeften TW. Type 2 diabetes: pathogenesis and treatment. *Lancet*. 2008 Jun 28; 371(9631):2153-6.

Stunkard A & McLaren-Hume M. The results of treatment for obesity: a review of the literature and report of a series. *AMA Arch Intern Med*. 1959 Jan; 103(1):79-85.

Sugiyama T, Healy GN, Dunstan DW, Salmon J, Owen N. Joint associations of multiple leisure-time sedentary behaviours and physical activity with obesity in Australian adults. *Int J Behav Nutr Phys Act*. 2008 Jul 1; 5:35.

Sullivan EL & Cameron JL. A rapidly occurring compensatory decrease in physical activity counteracts diet-induced weight loss in female monkeys. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2010 Apr; 298(4):R1068-74.

Swinburn B, Sacks G, Ravussin E. Increased food energy supply is more than sufficient to explain the US epidemic of obesity. *Am J Clin Nutr*. 2009 Dec; 90(6):1453-6.

Tataranni PA, Ravussin E. Energy metabolism and obesity. In: Wadden TA, Stunkard AJ, eds. *Handbook of Obesity Treatment*. New York, NY: The Guilford Press. 2002.

Thiele TE, van Dijk G, Yagaloff KA, Fisher SL, Schwartz M, Burn P et. al. Central infusion of melanocortin agonist MTII in rats: assessment of c-Fos expression and taste aversion. *Am J Physiol*. 1998 Jan; 274(1 Pt 2):R248-54.

Trayhurn P. Endocrine and signalling role of adipose tissue: new perspectives on fat. *Acta Physiol Scand*. 2005 Aug; 184(4):285-93.

Tremblay MS & Willms JD. Is the Canadian childhood obesity epidemic related to physical inactivity? *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2003 Sep; 27(9):1100-5.

U.S. Department of Health and Human Services, physical activity guidelines for Americans, U.S. Department of Health and Human Services, Rockville, MD University Press. 2008.

US Department of Agriculture, Economic Research Service. Food CPI, Prices and Expenditures: Sales of Meals and Snacks Away from Home by Type of Outlet. Washington, DC: US Department of Agriculture. 2007.

van Dam RM, Willett WC, Rimm EB, Stampfer MJ, Hu FB. Dietary fat and meat intake in relation to risk of type 2 diabetes in men. *Diabetes Care*. 2002 Mar; 25(3):417-24.

Vasan RS, Larson MG, Leip EP, Kannel WB, Levy D. Assessment of frequency of progression to hypertension in non-hypertensive participants in the Framingham Heart Study: a cohort study. *Lancet*. 2001 Nov 17; 358(9294):1682-6.

Volkow ND & Wise RA. How can drug addiction help us understand obesity? *Nat Neurosci*. 2005 May; 8(5):555-60.

Wadden TA, Butryn ML, Byrne KJ. Efficacy of lifestyle modification for long-term weight control. *Obes Res*. 2004 Dec; 12 Suppl:151S-62S.

Wang Y, Rimm EB, Stampfer MJ, Willett WC, Hu FB. Comparison of abdominal adiposity and overall obesity in predicting risk of type 2 diabetes among men. *Am J Clin Nutr*. 2005 Mar; 81(3):555-63.

Wang Y, Simar D, Fiatarone Singh MA. Adaptations to exercise training within skeletal muscle in adults with type 2 diabetes or impaired glucose tolerance: a systematic review. *Diabetes Metab Res Rev*. 2009 Jan; 25(1):13-40.

Watanabe S, Yaginuma R, Ikejima K, Miyazaki A. Liver diseases and metabolic syndrome. *J Gastroenterol*. 2008; 43(7):509-18.

Webber J. Energy balance in obesity. *Proc Nutr Soc*. 2003 May; 62(2):539-43.

Webster JL, Dunford EK, Neal BC. A systematic survey of the sodium contents of processed foods. *Am J Clin Nutr.* 2010 Feb; 91(2):413-20.

Wei S, Schmidt MD, Dwyer T, Norman RJ, Venn AJ. Obesity and menstrual irregularity: associations with SHBG, testosterone, and insulin. *Obesity (Silver Spring).* 2009 May; 17(5):1070-6.

Weigle DS, Duell PB, Connor WE, Steiner RA, Soules MR, Kuijper JL: Effect of fasting, refeeding, and dietary fat restriction on plasma leptin levels. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997 Feb; 82(2):561-5.

Weisberg S, Mccann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, Ferrante Jr AW. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest.* 2003 Dec; 112(12):1796-808.

Weiss EC, Galuska DA, Kettel Khan L, Gillespie C, Serdula MK. Weight regain in U.S. adults who experienced substantial weight loss, 1999-2002. *Am J Prev Med.* 2007 Jul; 33(1):34-40.

Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care.* 2004 May; 27(5):1047-53.

Wolfson RG & de Wardener HE. Primary renal abnormalities in hereditary hypertension. *Kidney Int.* 1996 Sep; 50(3):717-31.

World Health Organization. Disponível em <http://www.who.int/topics/obesity/en/>. Acessado em 09/09/2010.

World Health Organization. *ICD-10: International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems. 10th Revision. 2007.* Disponível on-line em <http://apps.who.int/classifications/apps/icd/icd10online/>. Acessado em 09/09/2010.

World Health Organization. *Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of the WHO Consultation on Obesity.* Geneva: World Health Organization. 1998.

Yach D, Stuckler D, Brownell KD. Epidemiologic and economic consequences of the global epidemics of obesity and diabetes. *Nat Med*. 2006 Jan; 12(1):62-6.

Yamada M, Murakami K, Sasaki S, Takahashi Y, Okubo H. Soft drink intake is associated with diet quality even among young Japanese women with low soft drink intake. *J Am Diet Assoc*. 2008 Dec; 108(12):1997-2004.

Young LR & Nestle M. The contribution of expanding portion sizes to the US obesity epidemic. *Am J Public Health*. 2002 Feb; 92(2):246-9.