



# Efeitos do Exercício Crônico Sobre a Concentração Circulante da Leptina e Ghrelina em Ratos com Obesidade Induzida por Dieta

## Effects of the Chronic Exercise on the Circulating Concentration of Leptin and Ghrelin in Rats With Diet-induced Obesity

Ricardo Eguchi<sup>1</sup>

Nadia Carla Cheik<sup>2</sup>

Lila Missae Oyama<sup>3</sup>

Claudia Maria Oller do Nascimento<sup>4</sup>

Marco Túlio de Mello<sup>5</sup>

Sergio Tufik<sup>6</sup>

Ana Dâmaso<sup>7</sup>

1. UNIFESP – Departamento de Ciências da Saúde – SP.

2. Centro Universitário do Triângulo/Uberlândia – MG.

3. UNIFESP – Departamento de Ciências da Saúde – SP.

4. UNIFESP – Departamento de Fisiologia – SP.

5. CEPE/UNIFESP – Departamento de Psicobiologia – SP.

6. UNIFESP – Departamento de Psicobiologia – SP.

7. UNIFESP – Departamento de Ciências da Saúde – SP.

### Endereço para correspondência:

Av. Ana Costa, 95 – Santos-SP

CEP 11060-001

Email: eguchi@unifesp.br

Submetido em 12/02/2007

Versão final recebida em 20/08/2007

Aceito em 03/08/2007

### RESUMO

A obesidade vem se tornando uma das maiores epidemias mundiais, dessa forma, conhecer sua etiologia e mecanismos que regulam seu desenvolvimento é de grande relevância para o seu tratamento. Portanto, o objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos da obesidade exógena induzida pela dieta de cafeteria e da atividade física crônica em ratos, sobre a adiposidade e a concentração sérica dos hormônios reguladores do balanço energético (leptina e grelina). Foram utilizados 32 ratos Wistar machos, divididos em quatro grupos: Sedentário alimentado com dieta padrão (SN), sedentário alimentado com dieta de cafeteria (SC), treinado alimentado com dieta padrão (TN) e treinado alimentado com dieta de cafeteria (TC). A dieta de cafeteria aumentou significativamente a adiposidade central (RET) e visceral (EPI) ( $p < 0,05$ ), induzindo a obesidade. Por outro lado, o treinamento físico minimizou o efeito da dieta de cafeteria, diminuindo tanto a adiposidade central como a visceral. A atividade física crônica não impediu o desenvolvimento da hiperleptinemia nos ratos normocalóricos e alimentados com dieta de cafeteria. Observou-se ainda que decorrente do treinamento físico e consequente redução de massa, nos animais normocalóricos, houve diminuição na concentração plasmática de grelina. Concluímos com este estudo que a qualidade da dieta e a quantidade de tecido adiposo, apresentaram-se como importantes reguladores da concentração plasmática de hormônios reguladores do balanço energético, reforçando a importância de uma dieta adequada e da atividade física contínua na manutenção do peso corporal no combate aos efeitos deletérios da obesidade.

**Palavras-chave:** obesidade, dieta de cafeteria, exercício, balanço energético, grelina, leptina.

### ABSTRACT

Obesity is becoming one of the biggest worldwide epidemics. Therefore, knowing its etiology and mechanisms that regulate its development is of great relevance for its treatment. Thus, the aim of the present study was to evaluate the effects of obesity induced by the palatable hyperlipidic diet and of the chronic physical activity in rats, on the adiposity and the serum concentration of regulating hormones of the energy balance (leptin and ghrelin). 32 male Wistar rats were divided in four groups: Sedentary fed with chow diet (SN), sedentary fed with cafeteria diet (SC), trained fed with chow diet (TN) and trained fed with cafeteria diet (TC). The cafeteria diet led to a significant increase of central (RET) and visceral (EPI) adiposity ( $p < 0.05$ ). Conversely, the exercise training minimized the effect of the cafeteria diet, diminishing the central and visceral adiposity. Leptin was also increased in the groups fed with the cafeteria diet, suggesting increase of the resistance to the action of this hormone. Chronic physical activity did not hinder the development of hyperleptinemia. Reduction in the serum ghrelin concentration was observed only in the normocaloric group. Therefore, it has been concluded that the quality of diet and the quantity of adipose tissue mass behaved as important regulators of the serum concentration of leptin and ghrelin, reinforcing the importance of a suitable diet and continuous physical activity in the maintenance of body weight in the combat to the deleterious effects of obesity.

**Keywords:** obesity, palatable hyperlipidic diet, exercise, energy balance, ghrelin, leptin.

## INTRODUÇÃO

A obesidade vem se tornando uma das maiores epidemias mundiais, atingindo países tanto desenvolvidos como em desenvolvimento. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS, 2005), aproximadamente 1,6bilhões de adultos (> 15 anos) estavam com sobrepeso (IMC  $\geq$  25), e pelo menos 400milhões eram obesos (IMC  $\geq$  30)<sup>(1)</sup>. No Brasil, segundo dados do IBGE relativos ao biênio 2002-03, 40% da população estava com sobrepeso<sup>(2)</sup>. A etiologia da obesidade é um processo multifatorial que envolve aspectos ambientais e genéticos. Conhecer estes mecanismos é de grande relevância para o tratamento da obesidade e para manutenção e preservação da qualidade de vida.

Durante períodos de déficit energético e restrição de alimento a fome é aumentada enquanto há redução na taxa metabólica. Neste sentido, o controle neuro-humoral da homeostase energética é mais tolerante ao aumento de massa corporal do que da redução, sendo este comportamento um dos maiores obstáculos para os tratamentos de longa duração em indivíduos obesos<sup>(3,4)</sup>.

Dois hormônios recentemente descobertos, a leptina e grelina, participam da regulação do balanço energético. Em 1994 foi clonado o gene *ob*, da leptina, isso desencadeou uma verdadeira revolução na compreensão da biologia da obesidade. A leptina caracteriza-se como um hormônio polipeptídico expresso principalmente nos adipócitos, tanto de seres humanos quanto de roedores, e atua como um fator de sinalização entre o tecido adiposo e o SNC, reduzindo a ingestão alimentar e aumentando o gasto energético<sup>(5-8)</sup>.

Em obesos foi observado hiperleptinemia e aumento da resistência a leptina, pois os adipócitos, sobretudo do tecido subcutâneo, possuem o produto gênico leptina. Sendo que existe uma relação direta entre o aumento na ingestão calórica, adiposidade e maior secreção de leptina. No entanto, os mecanismos pelo qual se desenvolve a resistência a leptina ainda são desconhecidos<sup>(9,10)</sup>. A concentração circulante de leptina, assim como a expressão do RNAm nos adipócitos, pode ser influenciada pela ingestão alimentar, por variações da massa corporal, pela insulina, pelos corticosteróides e atividade física<sup>(5-7)</sup>. Dessa forma, vários estudos verificaram reduções significativas na concentração circulante de leptina em treinamentos de longa duração (>12 semanas), reforçando a importância de um estilo de vida fisicamente ativo em indivíduos obesos, evitando-se então, resistência à ação deste hormônio<sup>(6-8,10,11)</sup>.

A grelina é outro hormônio regulador do balanço energético. Produzida principalmente pelo estômago, a grelina é um peptídeo que estimula a secreção do hormônio do crescimento e aumenta a adiposidade. Foi primeiramente caracterizado como ligante endógeno para os receptores do hormônio liberador de hormônio do crescimento (GHRH), o qual é expresso pela adenohipófise<sup>(12,13)</sup>. Na regulação do balanço energético, a grelina aumenta a ingestão alimentar e diminui o gasto energético, realizando uma ligação entre o trato gastrointestinal e o cérebro. A produção gástrica deste hormônio é regulada através de fatores nutricionais e hormonais. Sua concentração plasmática aumenta durante o jejum e diminui até uma hora após a alimentação e aparentemente não sofre influência da atividade física<sup>(12-16)</sup>. A possibilidade de que a elevada concentração plasmática de grelina possa ativar a ingestão alimentar foi confirmada por diversas pesquisas em roedores nos quais a administração central (intracerebroventricular) e periférica (subcutânea e intraperitoneal) de grelina induziu à obesidade, devido ao aumento

da ingestão alimentar e diminuição da oxidação lipídica<sup>(3,16)</sup>. No entanto, English et al., demonstraram que após a ingestão alimentar, a concentração plasmática de grelina não diminuiu em indivíduos obesos. Isto poderia ocasionar um aumento do consumo alimentar, sugerindo que a grelina pode estar envolvida com a fisiopatologia da obesidade<sup>(17)</sup>.

Variações na composição corporal podem ser decorrentes de inúmeros fatores, entre estes a adequação nutricional e a atividade física. Estudos com ratos alimentados com dieta de cafeteria<sup>(18)</sup> ou dieta hipercolesterolêmica<sup>(19)</sup> têm sido utilizados como modelo experimental para estudos da obesidade e do balanço energético.

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da associação da obesidade exógena decorrente da ingestão de dieta hiperlipídica palatável e atividade física crônica em ratos no tecido adiposo e na concentração sérica dos hormônios reguladores do balanço energético (leptina e grelina).

## METODOLOGIA

### Animais

Utilizamos neste estudo ratos machos Wistar (n=32) com 28 dias de idade, provenientes do Biotério da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP). Os animais foram mantidos sob condições de temperatura constante (23  $\pm$  2°C) e sob um ciclo claro-escuro de 12 horas, iniciando-se a fase clara às 7 horas da manhã. Os ratos foram divididos em quatro grupos: sedentário tratado com dieta comercial padrão (SN), sedentário tratado com dieta hiperlipídica (SC), treinado tratado com dieta comercial padrão (TN) e treinado tratado com dieta hiperlipídica (TC).

Todos os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de São Paulo (nº 1340/06).

### Dieta de cafeteria

A dieta palatável hiperlipídica foi previamente descrita e utilizada por Estadella et al<sup>(18)</sup> e consiste em uma mistura hipercalórica (normoprotéica e hiperlipídica) contendo ração comercial LABINA<sup>®</sup>, amendoim torrado, chocolate ao leite e bolacha maisena na proporção 3:2:2:1. Esses constituintes foram moídos e misturados. O conteúdo energético da dieta palatável hiperlipídica, determinado em um calorímetro adiabático IKA-C400, é 21,40 kJ/g, o que perfaz 4,37 kJ/g a mais do que a dieta padrão (17,03 kJ/g).

### Treinamento

O programa de treinamento padronizado por Dâmaso, 1996<sup>(20)</sup>, foi realizado por oito semanas, 5 d/sem, utilizando natação contínua em tanques individuais (mantidos entre 32-36°C). Os animais nadaram 30min nos dias 1-3 para adaptação. Após a adaptação o treinamento consistiu em sessões de 90min de natação contínua com 5% da massa corporal de cada rato como sobrecarga, atada à cauda do animal. A sobrecarga foi corrigida semanalmente, de acordo com o aumento da massa corporal de cada rato.

### Controle da Massa Corporal e Consumo Alimentar

Os animais e a ração foram pesados diariamente, para controle da ingestão alimentar e aumento de peso corporal. Para o cálculo da evolução da massa corporal foi utilizada a fórmula:

$(\Delta) (\Delta \%) = [(massa\ final - massa\ inicial / massa\ inicial) \times 100]$ ; e para o cálculo do ganho de massa corporal:  $(massa\ final - massa\ inicial)$  em gramas.

## Experimentos e Coleta de Amostras

Os animais de todos os grupos experimentais foram sacrificados por decapitação em guilhotina ao final de 08 semanas de tratamento. Vale salientar que, os animais submetidos ao treinamento foram sacrificados em repouso, 24 horas após a última sessão de treinamento, para observação dos ajustes fisiológicos crônicos decorrentes do exercício.

Após a decapitação, o sangue, os tecidos adiposos brancos retroperitoneal (RET) e epididimal (EPI), o tecido adiposo marrom inter-escapular (TAM), o músculo gastrocnêmio (GAST) e o fígado (FIG), foram separados, imediatamente pesados e estocados em freezer a  $-20^{\circ}\text{C}$  para posteriores análises bioquímicas e morfométricas. As análises bioquímicas foram realizadas em duplicata.

## Leptina

A concentração de leptina no plasma foi determinada através do método de radioimunoensaio, sendo utilizado Kit da Linco® para leptina de rato. O princípio do método baseia-se na competição, para a ligação com o anticorpo anti-leptina e leptina marcada radioativamente. Após a separação total do hormônio radioativo livre, a radioatividade emitida pela amostra foi medida por meio de um contador de raios gama (modelo ANSR-ABBOTT).

Os valores foram calculados utilizando-se uma curva padrão de leptina de rato, sendo expressos em ng/ml.

## Grelina

A concentração de grelina plasmática foi mensurada utilizando um Kit da Linco® para ratos. A determinação da concentração plasmática de grelina foi realizada pelo método de radioimunoensaio, onde o método baseia-se na competição, seguindo os mesmos princípios da dosagem de leptina. O resultado final foi expresso em  $\mu\text{g/ml}$

## Tratamento estatístico

Os valores estão apresentados em média  $\pm$  desvio padrão. Os resultados foram avaliados por análise de variância (ANOVA two way). Para verificar a existência de diferença entre as médias foi utilizado o Teste de Tukey-Kramer. Foi realizada análise de correlação linear (Correlação de Pearson). Valores de  $p \leq 0,05$  foram considerados significativos.

## RESULTADOS

Verifica-se na tabela 1, que a evolução e ganho de massa corporal não foram modificadas nos grupos experimentais em resposta ao exercício e a dieta de cafeteria, comparados ao grupo controle (sedentário normocalórico). O consumo alimentar (gramas) e a eficiência

alimentar também não foram modificados. No entanto, a ingestão calórica do grupo sedentário alimentado com a dieta de cafeteria foi significativamente aumentada em relação ao grupo sedentário normocalórico ( $p \leq 0,05$ ).

Os dados apresentados nas tabelas 2 e 3 indicam que a dieta de cafeteria triplicou o peso absoluto e relativo do tecido adiposo central (RET) e duplicou o peso do tecido adiposo visceral (EPI) do grupo sedentário alimentado com dieta de cafeteria em relação ao grupo sedentário normocalórico ( $p \leq 0,05$ ). Por outro lado, o treinamento físico crônico impediu modificações significativas no peso absoluto destes tecidos, mas o peso relativo deste tecido ainda foi significativamente aumentado ( $p \leq 0,05$ ).

**Tabela 2.** Peso absoluto dos tecidos (gramas) em animais sedentários e treinados alimentados com diferentes dietas. Os valores estão apresentados como média e desvio padrão (n=8).

Tecido	RET	EPI	TAM	GAST	FIG
SN	3,34 $\pm$ 1,04	3,39 $\pm$ 0,52	0,28 $\pm$ 0,07	1,85 $\pm$ 0,36	13,57 $\pm$ 1,31
SC	9,22 $\pm$ 4,24*	6,18 $\pm$ 2,31*	0,38 $\pm$ 0,09	1,81 $\pm$ 0,12	14,02 $\pm$ 1,54
TN	2,83 $\pm$ 1,07	3,14 $\pm$ 0,8	0,64 $\pm$ 0,15 +	2,05 $\pm$ 0,21	14,69 $\pm$ 1,89
TC	6,26 $\pm$ 1,98	4,92 $\pm$ 1,27	0,92 $\pm$ 0,14 +	1,78 $\pm$ 0,13	13,65 $\pm$ 2,14

\*  $p \leq 0,05$ : Grupo sedentário normocalórico versus sedentário alimentado com dieta de cafeteria

+  $p \leq 0,05$ : Grupo sedentário versus treinado alimentado com o mesmo tipo de dieta

**Tabela 3.** Peso relativo dos tecidos (gramas/100g de massa corporal) em animais sedentários e treinados alimentados com diferentes dietas. Os valores estão apresentados como média e desvio padrão (n=8).

	RET	EPI	TAM	GAST	FIG
SN	0,83 $\pm$ 0,06	0,85 $\pm$ 0,06	0,07 $\pm$ 0,01	0,46 $\pm$ 0,03	3,38 $\pm$ 0,24
SC	2,26 $\pm$ 0,2*	1,51 $\pm$ 0,14*	0,09 $\pm$ 0,01*	0,44 $\pm$ 0,04	3,44 $\pm$ 0,3
TN	0,66 $\pm$ 0,04	0,73 $\pm$ 0,05	0,15 $\pm$ 0,01 +	0,48 $\pm$ 0,03	3,43 $\pm$ 0,24
TC	1,58 $\pm$ 0,14 +	1,24 $\pm$ 0,11 +	0,23 $\pm$ 0,02 +	0,45 $\pm$ 0,04	3,44 $\pm$ 0,31

\*  $p \leq 0,05$ : Grupo sedentário normocalórico versus sedentário alimentado com dieta de cafeteria

+  $p \leq 0,05$ : Grupo sedentário versus treinado alimentado com o mesmo tipo de dieta

**Tabela 1.** Evolução da massa corporal (%), Ganho de massa corporal (g), Ingestão alimentar (g), Ingestão Calórica (Kcal) e Eficiência alimentar em animais sedentários e treinados alimentados com diferentes dietas. Os valores estão apresentados como média e desvio padrão (n=8).

Grupo	Evolução massa corporal ( $\Delta$ %)	Ganho de massa corporal (g)	Ingestão alimentar (g)	Ingestão calórica (Kcal)	Eficiência alimentar
SN	83,76 $\pm$ 17,76	177,00 $\pm$ 29,01	1278,8 $\pm$ 88,1	4833,8 $\pm$ 333,01	0,14 $\pm$ 0,01
SC	91,89 $\pm$ 14,96	190,00 $\pm$ 32,56	1191,8 $\pm$ 118,77	5815,8 $\pm$ 579,63*	0,16 $\pm$ 0,02
TN	97,41 $\pm$ 12,93	203,63 $\pm$ 26,8	1406 $\pm$ 84,34	5313,3 $\pm$ 318,78	0,15 $\pm$ 0,02
TC	90,45 $\pm$ 16,43	188,25 $\pm$ 33,56	1239 $\pm$ 100,69	6047,8 $\pm$ 491,35	0,15 $\pm$ 0,02

\*  $p \leq 0,05$ : Grupo sedentário normocalórico versus sedentário alimentado com dieta de cafeteria

+  $p \leq 0,05$ : Grupo sedentário versus treinado alimentado com o mesmo tipo de dieta

Além disso, o treinamento físico aumentou significativamente o peso absoluto e relativo do tecido adiposo marrom (TAM). O grupo treinado normocalórico duplicou o valor absoluto e relativo, e o grupo treinado com dieta de cafeteria triplicou a quantidade de TAM relativa e absoluta em relação ao grupo sedentário normocalórico ( $p \leq 0,05$ ). Comparando o grupo sedentário normocalórico com o grupo sedentário alimentado com dieta de cafeteria, não houve diferença significativa no valor absoluto do TAM, mas o valor relativo no grupo alimentado com dieta de cafeteria foi significativamente maior ( $p \leq 0,05$ ).

A dieta de cafeteria e o treinamento físico não apresentaram modificações significativas do peso absoluto e relativo do tecido adiposo no músculo (GAST) e no tecido hepático (FIG).

As concentrações circulantes dos hormônios leptina e grelina estão apresentadas na tabela 4. Os grupos alimentados com dieta de cafeteria tiveram aumento significativo na concentração de leptina, sendo quatro vezes maior no grupo sedentário, e sete vezes no grupo treinado, comparados aos seus respectivos grupos controle ( $p \leq 0,05$ ). Não houve alterações na concentração de grelina entre os grupos sedentários. Entre os grupos treinados, ocorreu diminuição significativa na concentração de grelina do grupo treinado normocalórico, e aumento significativo na concentração de grelina comparados à seus respectivos grupos controle ( $p \leq 0,05$ ).

**Tabela 4.** Concentração circulante dos hormônios leptina (ng/dL) e grelina ( $\mu\text{g/dL}$ ) em animais sedentários e treinados alimentados com diferentes dietas. Os valores estão apresentados como média e desvio padrão ( $n=8$ ).

	SN	SC	TN	TC
<b>Leptina</b>	3,40 $\pm$ 0,66	13,47 $\pm$ 1,96*	2,31 $\pm$ 0,27	17,07 $\pm$ 2,55*
<b>Grelina</b>	5,27 $\pm$ 0,66	4,98 $\pm$ 0,39	2,34 $\pm$ 0,24 +	6,70 $\pm$ 1,10*

\*  $p \leq 0,05$ : Grupo sedentário normocalórico versus sedentário alimentado com dieta de cafeteria

+  $p \leq 0,05$ : Grupo sedentário versus treinado alimentado com o mesmo tipo de dieta

## DISCUSSÃO

Neste trabalho observamos alterações no consumo alimentar, composição corporal e concentração de leptina e grelina, ocorridas nos ratos alimentados com dieta de cafeteria e submetidos a treinamento físico crônico. Observou-se aumento significativo na ingestão calórica do grupo sedentário alimentado com a dieta de cafeteria em relação ao grupo sedentário normocalórico (tabela 1). O grupo treinado normocalórico obteve os maiores valores para ganho de massa corporal e consumo alimentar (gramas). Entretanto, decorrente do treinamento físico houve redução nos estoques de gordura ao final do estudo. De forma oposta, a dieta de cafeteria aumentou a ingestão de calorias (kcal), para o mesmo consumo alimentar (gramas), não caracterizando a hiperfagia. Tais resultados corroboram com os achados de Oskai et al.<sup>(21)</sup> demonstrando que a obesidade pode ocorrer mesmo sem hiperfagia.

Foram analisados para massa corporal, o ganho total em gramas (g) e a evolução em porcentagem (%) (tabela 1). Os resultados de ganho e evolução de massa corporal não apresentaram diferenças significativas, mas foi observado aumento significativo da adiposidade central (RET) e visceral (EPI) decorrente do consumo da dieta de

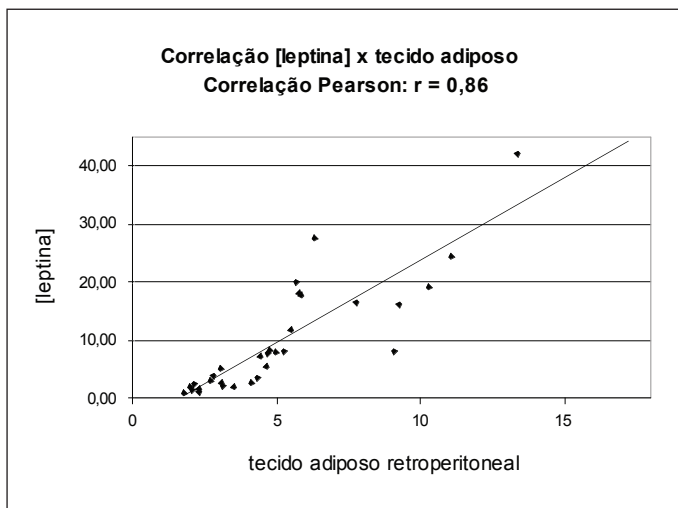
cafeteria (tabelas 2 e 3). Esses dados são compatíveis aos encontrados por Estadella et. al.<sup>(18)</sup>, comprovando a eficiência da dieta de cafeteria em gerar a obesidade exógena em ratos.

Observou-se aumento na adiposidade (central e visceral) no grupo alimentado com dieta de cafeteria, no entanto, estes efeitos foram atenuados pelo treinamento físico. Entretanto, estes valores não foram normalizados. Decorrente do treinamento físico em ratos normocalóricos observou-se tendência à redução no peso absoluto do tecido adiposo em relação aos respectivos sedentários. Como não houve diferença na massa corporal entre os grupos e ocorreu a diminuição na quantidade de tecido adiposo dos grupos treinados comparados a seus respectivos grupos controle, possivelmente o treinamento físico levou ao aumento de massa magra e de glicogênio muscular, pois sabe-se que o glicogênio é um substrato de alto peso molecular em relação às gorduras<sup>(22)</sup>.

Esses dados confirmam a ação benéfica do treinamento físico no combate ao desenvolvimento da obesidade exógena. Estudos prévios evidenciaram que o treinamento físico aumenta a capacidade de mobilização da gordura existente. Sabe-se também que a predominância da utilização dos substratos de fonte lipídica está fortemente regulada pelo tipo, duração e intensidade do exercício, assim como pela ação hormonal e dieta ingerida<sup>(23,24)</sup>. Esses estudos também evidenciaram que, decorrente do exercício aeróbio de longa duração, realizado abaixo do limiar de lactato, ocorre aumento da lipólise, sendo este efeito observado durante o exercício e nas primeiras horas de recuperação pós-exercício. Estas alterações do metabolismo lipídico explicam a redução no peso relativo do tecido adiposo central (RET) e visceral (EPI) dos animais alimentados com dieta de cafeteria, sem concomitantes alterações no consumo alimentar, sugerindo um balanço energético negativo em resposta ao treinamento, aumentando o gasto energético, através do trabalho muscular.

Defeitos na termogênese também podem levar à obesidade, por alterarem o balanço energético. O tecido adiposo marrom (TAM) apresenta importante função na termogênese devido à presença de proteínas mitocondriais desacopladoras (UCP)<sup>(25)</sup>. Neste estudo, o TAM apresentou aumentos em resposta, tanto ao treinamento físico como à dieta de cafeteria. Este resultado sugere que ambos fatores: dieta e exercício podem causar ativação simpática crônica do TAM, levando ao aumento da termogênese, além de elevar os níveis de leptina e a atividade deste tecido, como será discutido adiante. De acordo com dados prévios apresentados por nosso laboratório, o aumento do peso relativo e absoluto de tecido adiposo marrom decorrente do treinamento físico está associado a aspectos relacionados à manutenção da temperatura corporal durante o treino de natação e, principalmente, durante a secagem do corpo dos animais após as sessões de exercício, pois o exercício realizado em esteira rolante não aumentou o peso do TAM.

Os níveis plasmáticos de leptina e grelina estão apresentados na tabela 4. No desenvolvimento da obesidade severa, a maioria dos casos está geralmente associada a elevados níveis de leptina plasmática. Este hormônio atravessa a barreira hemato-encefálica e interage com os neurônios hipotalâmicos estimulando a região anorexígena, composta por neurônios produtores de proopiomelanocortinas (POMC) e inibindo a região orexígena, formada por neurônios produtores de neuropeptídeo Y (NPY) e proteínas relacionadas ao agouti (AGRP), diminuindo a ingestão alimentar e aumentando a termogênese<sup>(3)</sup>.



**Figura 1.** Correlação entre a concentração de leptina plasmática e o peso absoluto do tecido adiposo retroperitoneal.

Widdowson et. al.<sup>(9)</sup>, observaram que em ratos induzidos a obesidade através da dieta de cafeteria, ocorreu resistência à ação da leptina. Este dado reforça os resultados obtidos no presente estudo, tendo sido demonstrado que a dieta de cafeteria, além de promover a obesidade exógena, induziu os animais a hiperleptinemia, em ambos os grupos alimentados com a dieta de cafeteria, que apresentaram aumentos significativos nos níveis plasmáticos de leptina. A concentração de leptina foi proporcional ao aumento do tecido adiposo, demonstrando haver correlação positiva entre estas variáveis (Figura 1). Assim, estes resultados sugerem que, devido à baixa sensibilidade a ação deste hormônio, houve diminuição de lipólise nos tecidos adiposos (central e visceral), assim como ausência de hipofagia nos animais alimentados com este tipo de dieta.

A origem da resistência a leptina ainda não foi elucidada, a hipótese de que a resistência a leptina esteja relacionada à diminuição de transporte de leptina para o sistema nervoso central (SNC) foi sugerida desde que se descobriu que animais e pessoas obesas possuem menores níveis de leptina no fluido cerebrospinal do que no plasma<sup>(26)</sup>. Portanto, sabe-se hoje, que o potencial terapêutico da leptina requer que o uso exógeno deste hormônio possa aumentar a quantidade de leptina no líquido cerebrospinal, promovendo aumento na sensibilidade dos receptores deste hormônio no sistema nervoso central<sup>(27)</sup>.

Sobre a relação leptina e exercício físico, os resultados são conflitantes na literatura. No presente estudo, o treinamento físico embora capaz de atenuar o efeito da dieta hiperlipídica no desenvolvimento da obesidade central e visceral, não foi capaz de impedir o desenvolvimento da hiperleptinemia, evidenciando que a qualidade da dieta juntamente com a quantidade de gordura corporal são os principais fatores reguladores da produção de leptina, assim como descrito na literatura<sup>(28)</sup>. Pérusse et al. mensuraram a leptina plasmática, antes e após 12 minutos de cicloergometria a 50W, e imediatamente após o alcance do esforço máximo, e não verificaram alterações nos níveis plasmáticos de leptina em resposta, tanto no efeito agudo como no efeito crônico<sup>(7)</sup>. Outros estudos reforçam que o treinamento físico não é capaz de reverter o estado de hiperleptinemia<sup>(6,8)</sup>. Reduções nos níveis de leptina plasmática após treinamento físico apresentados em alguns estudos estão associados principalmente a diminuição da

quantidade de tecido adiposo<sup>(6-8)</sup>. Futuras pesquisas são necessárias para averiguar o impacto direto do exercício físico na expressão do gene *ob* e secreção de leptina, independentemente dos efeitos do exercício no balanço energético, só assim poderemos compreender de fato, a implicação do exercício na secreção desse hormônio em animais e/ou indivíduos obesos.

A grelina também está relacionada à regulação central da ingestão alimentar e do balanço energético, no entanto, tem ação oposta a leptina. A ingestão alimentar se apresenta como o regulador primário da grelina<sup>(29)</sup>. Em obesos, Tschop et al. verificaram diminuição nos níveis circulantes de grelina plasmática<sup>(29)</sup>. Esta associação negativa foi interpretada por estes autores como uma resposta fisiológica que falha ao tentar restabelecer o equilíbrio energético<sup>(4,29)</sup>. Estudos recentes em humanos têm demonstrado que a concentração plasmática de grelina está inversamente relacionada ao percentual de gordura corporal, ou seja, em indivíduos obesos a concentração plasmática de grelina apresenta-se bastante diminuída<sup>(15,30)</sup>. Foster-Schubert et al., observaram após redução de 3kg em voluntários submetidos ao exercício aeróbio que houve aumento (18%) nos níveis plasmáticos de grelina<sup>(13)</sup>. No entanto, os autores discutem que o aumento da grelina ocorreu como uma resposta compensatória à perda de peso, e não pelo exercício físico *per se*, como encontrado na literatura<sup>(14,15)</sup>. Além disso, diversos estudos têm demonstrado regulação da concentração de grelina em resposta a interação entre outros determinantes fisiológicos, como as concentração de leptina, insulina e IGF-I<sup>(12-15)</sup>. No presente estudo, decorrente do treinamento físico e conseqüente redução de massa dos animais normocalóricos, observou-se diminuição na concentração plasmática de grelina, sugerindo a importância deste tipo de treinamento, na vigência de dieta balanceada, para a prevenção do efeito rebote, comumente associados ao tratamento da obesidade.

Entretanto, no presente estudo, em animais com obesidade exógena o treinamento físico não impediu o aumento significativo da concentração circulante de grelina, provavelmente, estimulando o aumento da ingestão alimentar, favorecendo na vigência da dieta de cafeteria, o desenvolvimento da obesidade, possivelmente produzindo uma falha na resposta à ingestão de alimentos, comum em indivíduos obesos<sup>(17)</sup>. De fato, Choi et al. demonstraram que a administração exógena tanto de grelina acilada (ativa) ou desacilada (inativa) promove a diferenciação e proliferação de adipócitos em ratos<sup>(31)</sup>. Mackelvie et al., afirmaram que as duas formas de grelina (ativa ou inativa) promovem modificações no balanço energético, estimulando a ingestão de alimentos e diminuindo o gasto energético ou modulando a atividade dos adipócitos<sup>(32)</sup>. Porém, estes autores mencionaram ainda que o receptor de grelina GHS-R1a, que promove a adipogênese, necessita ser melhor compreendido<sup>(31,32)</sup>. Outro fator mencionado é que de modo geral a concentração circulante de grelina aumenta em indivíduos obesos durante tratamento para emagrecimento. Este mecanismo ocorre como estratégia compensatória para repor os estoques de energia depletados<sup>(33)</sup>. Assim, apesar de não podermos extrapolar os resultados de modelos experimentais para seres humanos, estes estudos recentes reforçam os nossos achados<sup>(31-33)</sup>.

## CONCLUSÃO

Concluímos com este estudo que a dieta de cafeteria foi eficiente em induzir os ratos à obesidade central (RET) e visceral (EPI). O treinamento físico crônico por sua vez reduziu a quantidade de tecido

adiposo, mas não aos mesmos níveis dos grupos normocalóricos. Sobre os níveis plasmáticos de leptina e grelina, verificamos que a qualidade da dieta e a quantidade de tecido adiposo apresentaram-se como importantes reguladores da concentração plasmática destes hormônios, e ainda, que o treinamento físico, embora tenha reduzido a quantidade de tecido adiposo central e visceral, não foi capaz de normalizar as concentrações de leptina e grelina modificadas pela dieta de cafeteria, sugerindo a importância do treinamento físico em longo prazo para o controle hormonal do balanço energético.

As alterações desses hormônios em resposta ao desenvolvimento da obesidade exógena, reforçam a importância de uma dieta adequada e da atividade física contínua na manutenção do peso corporal e no

combate aos efeitos deletérios da obesidade. No entanto, novos estudos são necessários para elucidar os mecanismos de regulação destes hormônios em resposta ao exercício físico e alterações na dieta, em seus aspectos celulares, moleculares e fisiológicos.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o suporte financeiro da CAPES, FAPESP (PROCESSOS: CEPID/SONO # 9814303-3 S.T; 2006/00684-3 e 2006/54996-6).

---

Todos os autores declararam não haver qualquer potencial conflito de interesses referente a este artigo.

---

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. WHO. Obesity and Overweight. [acessado em dez 2006] n. 311. 2006. Disponível em: URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/print.html>.
2. IBGE. Pesquisa de Orçamentos Familiares 2002-2003. Análise da disponibilidade domiciliar de alimentos e do estado nutricional no Brasil. IBGE: Janeiro, 2004: 76.
3. Schwartz MW, Woods SC, Seeley RJ, Barsh GS, Baskin DG, Leibel RL. Is the homeostasis system inherently biased toward weight gain? *Diabetes* 2003; 52: 232-8.
4. Tschop M, Morrison KM. Weight loss at high altitude. *Adv Exp Med Biol* 2001; 502: 237-47.
5. Da Mota GR, Zanesco A. Leptina, grelina e exercício físico. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2007; 51: 25-33.
6. Kraemer RR, Chu H, Castracane VD. Leptin and exercise. *Exp Biol Med* 2002; 227: 701-8.
7. Pérusse L, Collier G, Gagnon J, Leon AS, Rao DC, Skinner JS, et al. Acute and chronic effects of exercise on leptin levels in humans. *J Appl Physiol* 1997; 83: 5-10.
8. Reseland JE, Andersen SA, Solvoll K, Hjermann I, Urdal P, Holme I, et al. Effect of long-term changes in diet and exercise on plasma leptin concentrations. *Am J Clin Nutr* 2001; 73: 240-5.
9. Widdowson PS, Upton R, Buckingham R, Arch J, Williams G. Inhibition of food response to intracerebroventricular injection of leptin is attenuated in rats with diet-induced obesity. *Diabetes* 1997; 46: 1782-5.
10. Steinberg GR, Smith AC, Wormald S, Malenfant P, Collier C, Dyck DJ. Endurance training partially reverses dietary-induced leptin resistance in rodent skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2004; 286: E57-63.
11. Gutin B, Ramsey L, Barbeau P, Cannady W, Ferguson M, Litaker M, et al. Plasma leptin concentrations in obese children: changes during 4-mo periods with and without physical training. *Am J Clin Nutr* 1999; 69: 388-94.
12. Van der Lely AJ, Tschop M, Heiman ML, Ghigo E. Biological, physiological, pathophysiological, and pharmacological aspects of ghrelin. *Endocrine Reviews* 2004; 25: 426-57.
13. Foster-Schubert KE, McTiernan A, Frayo RS, Schwartz RS, Rajan KB, Yasui Y, et al. Human Plasma Ghrelin Levels Increase during a One-Year Exercise Program. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 820-5.
14. Kraemer RR, Durande RJ, Acevedo EQ, Johnson LG, Kraemer GR, Hebert EP, et al. Rigorous Running Increases Growth Hormone and Insulin-Like Growth Factor-I Without Altering Ghrelin. *Exp Biol Med* 2004; 229: 240-6.
15. Leidy HJ, Gardner JK, Frye BR, Snook ML, Schuchert MK, Richard EL, et al. Circulating Ghrelin Is Sensitive to Changes in Body Weight during a Diet and Exercise Program in Normal-Weight Young Women. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 2659-64.
16. Hinney A, Hoch A, Geller F, Schafer H, Siegfried W, Goldschmidt H, et al. Ghrelin gene: identification of missense variants and a frameshift mutation in extremely obese children and adolescents and healthy normal weight students. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 2716-24.
17. English PJ, Ghatgei MA, Malik IA, Bloom SR, Wilding JPH. Food fails to suppress ghrelin levels in obese humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 2984-7.
18. Estadella D, Oyama LM, Dâmaso AR, Ribeiro EB, Oller do Nascimento CM. Effect of palatable hyperlipidic diet on lipid metabolism of sedentary and exercised rats. *Nutrition* 2004; 20: 218-24.
19. Manzoni MS, Rossi EA, Carlos IZ, Vendramini RC, Duarte AC, Dâmaso AR. Fermented soy product supplemented with isoflavones affected fat depots in juvenile rats. *Nutrition* 2005; 21: 1018-24.
20. Dâmaso AR. Efeitos do exercício agudo e crônico sobre o metabolismo lipídico e a celularidade adiposa de ratas no período de lactação e após o desmame. São Paulo, 1996. 120p. Tese (Doutorado) – Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo.
21. Oscari LB, Miller WC, Arnall DA. Effects of dietary sugar and of dietary fat on food intake and body fat content in rats. *Growth* 1987; 51: 64-73.
22. Brouns F, Van der Vusse GJ. Utilization of lipids during exercise in human subjects: metabolic and dietary constraints. *Br J Nutr* 1998; 79: 117-28.
23. Ruby BC, Robergs RA. Gender differences in substrate utilisation during exercise. *Sports Med* 1994; 17: 393-410.
24. Borsheim E, Lonnroth P, Knardahl S, Jansson PA. No difference in the lipolytic response to beta-adrenoceptor stimulation in situ but a delayed increase in adipose tissue blood flow in moderately obese compared with lean men in the postexercise period. *Metabolism* 2000; 49: 579-87.
25. Frayn KN, Shadid S, Hamlani 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; 266: E308-17.
26. Caro JF, Sinha MK, Kolaczynski JW, Zhang PL, Considine RV. Leptin: the tale of an obesity gene. *Diabetes* 1996; 45: 1455-62.
27. Bjorbaek C, Elmquist JK, Frantz JD, Shoelson SE, Flier JS. Identification of SOCS-3 as a potential mediator of central leptin resistance. *Mol Cell* 1998; 1: 619-25.
28. Racette SB, Coppack SW, Landt M, Klein S. Leptin production during moderate-intensity aerobic exercise. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 2275-7.
29. Tschop M, Smiley DL, Heiman ML. Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature* 2000; 407: 908-13.
30. Dâmaso AR, Tock L, Tufik S, Prado WL, Stella SG, Fisberg M, et al. Tratamento multidisciplinar reduz o tecido adiposo visceral, leptina, grelina e a prevalência de esteatose hepática não alcoólica (NAFLD) em adolescentes obesos. *Rev Bras Med Esporte* 2006; 12: 263-7.
31. Choi K, Roh SG, Hong YH, Shrestha Y, Hishikawa D, Chen C, et al. The role of ghrelin and growth hormone secretagogues receptor on rat adipogenesis. *Endocrinol* 2003; 144: 754-9.
32. Mackelvie KJ, Meneilly GS, Elahi D, Wong ACK, Barr SI, Chanoine JP. Regulation of appetite in lean and obese adolescents after exercise: Role of acylated and desacyl ghrelin. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92: 648-54.
33. Klok MD, Jakobsdottir S, Drent ML. The role of leptin and ghrelin in the regulation of food intake and body weight in humans: a review. *Obesity reviews* 2007; 8: 21-34.