

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

Rachel Pamfilio Prado De Francischi

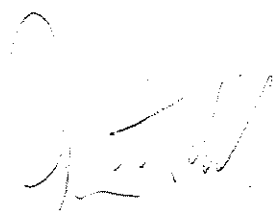
SECRETARIA
DE
PÓS-GRADUAÇÃO
I. B.

**Dieta Hiperlipídica e
Frequência de Ingestão Alimentar:
Efeitos Sobre as Reservas Lipídicas e a
Tolerância à Glicose em Ratos**

Este exemplar corresponde à redação final
da tese defendida pelo(a) candidato (a)
Rachel Pamfilio Prado De
Francischi
e aprovada pela Comissão Julgadora.

Dissertação apresentada ao Instituto de
Biologia para obtenção do Título de Mestre em
Biologia Funcional e Molecular, na área de
Bioquímica

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE


Orientador: Prof. Dr. Antonio Herbert Lancha Junior

2002

UNIDADE	BC
Nº CHAMADA	T/UNICAMP F847d
V	EX
TOMBO BC/	53031
PROC.	16-124/03
C	☐
D	☒
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	08/04/03
Nº CPD	

CM00181385-2

B18 12 287621

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE BIOLOGIA - UNICAMP**

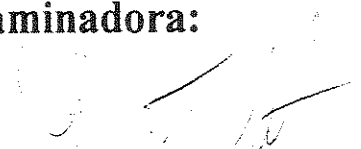
F847d Francischi, Rachel Pamfilio Prado De
Dieta hiperlipídica e frequência de ingestão alimentar: efeitos sobre as reservas lipídicas e a tolerância à glicose em ratos/
Rachel Pamfilio Prado de Francischi. --
Campinas, SP: [s.n], 2002.

Orientador: Antonio Herbert Lancha Junior
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas.
Instituto de Biologia .

1.Dieta hiperlipídica. 2.Glicose-intolerância. 3. Jejum. I.Lancha Junior, Antonio Herbert. II.Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. III.Título.

Data da defesa: 29/11/2002.

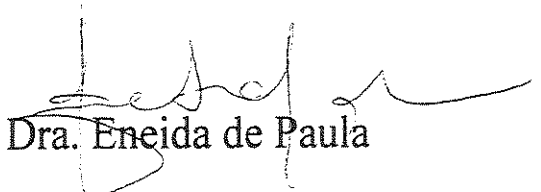
Banca examinadora:



Prof. Dr. Antonio Herbert Lancha Junior



Profa. Dra. Marília Cerqueira Leite Seelaender



Profa. Dra. Eneida de Paula

Profa. Dra. Denise Vaz de Macedo

*“Enquanto não estamos comprometidos,
surgem dúvidas e existe a possibilidade de voltar atrás,
e sempre há ineficácia.*

*Em relação a todos os atos cheios de ineficácia,
há uma verdade elementar
cuja ignorância mata incontáveis idéias e planos esplêndidos:
a de que no exato momento em que assumimos um compromisso
de maneira definitiva,
a providência Divina também se põe em movimento.*

*Todo tipo de coisas acontecem para ajudar-nos, que em outras
circunstâncias jamais teriam ocorrido.*

*Todo um fluir de acontecimentos, situações e decisões cria a nosso favor todo
tipo de incidentes, encontros imprevistos e ajudas materiais,
que homem nenhum poderia sonhar encontrar no seu caminho.*

*A coragem encerra em si genialidade, força e magia.
Ouse fazer e o poder lhe será dado.”*

Johann Wolfgang Goethe (em *O Poder do Compromisso*)

Agradecimentos...

Ao Prof. Dr. Antonio Herbert Lancha Junior, inesgotável fonte de entusiasmo e incentivo aos nossos sonhos. Ao orientador e amigo Junior, pela fidelidade ao nosso compromisso e pela confiança e constante credibilidade depositadas em mim. E, sobretudo, ao amigo Junior, por sua compreensão em todos os momentos.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo por viabilizar a realização deste trabalho através do apoio financeiro, o qual recebo desde 1997, presente nas bolsas de Mestrado (processo no. 99/09782-2) e de Iniciação Científica (processo no. 96/08619-2).

A Luciana Oquendo Pereira Lancha, Lú, pelo auxílio incondicional durante toda a execução deste trabalho: obrigada por padronizar a formulação da ração hiperlipídica, por me ensinar as extrações lipídicas, pela sua fundamental presença durante os experimentos de homogeneização das carcaças, pelo seu companheirismo e por sua competência.

Aos amigos de nosso laboratório, Marcelo Luis Marquesi, Hamilton Augusto Roschel (Mimi), André dos Santos Costa e Letícia Aiko Sawada, excelentes pesquisadores e companheiros essenciais dos dias de experimento, especialmente no auxílio das rápidas dissecações e dos sacrifícios.

Às colegas Fernanda Scagliusi, Patrícia Lopes Campos, Perla Menezes, Viviane Polacow, Camila Sanchez Freitas, Alessandra Gailey, Patrícia Oliveira, e a todos que me auxiliaram nos cuidados com os animais, especialmente a cada um que me ajudou nas cerca de 7600 refeições que oferecemos aos animais durante os experimentos dessa dissertação.

Ao Prof. Dr. Luis Fernando Bicudo Costa Rosa (GG) e a Profa. Dra. Marília Cerqueira Leite Seelander por sempre nos ajudar em tudo que precisamos. E a todos os alunos do Laboratório de Metabolismo do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, em especial aos colegas: Marcela Oliveira Meneguello, por me auxiliar nas extrações lipídicas; e (Dr.) Eivor Martins Junior, pela sua imprescindível participação na homogeneização das carcaças e nas dosagens de insulinemia.

Ao pessoal do Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, especialmente aos técnicos Edgar Muniz Machado e Renato Heidor pelo auxílio na formulação da ração hiperlipídica.

Às secretárias Andréa Vigilato e Marina Andresa da Cruz do Departamento de Biologia Funcional e Molecular do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas, pela paciência, atenção e eficiência nas soluções de problemas...

Ao Prof. Paulo Arthur Nogueira, pela revisão ortográfica e gramatical dessa dissertação.

Às minhas três melhores amigas, academicamente e na vida: Luciana Oquendo Pereira Lancha, por sempre caminhar comigo, Patricia Lopes Campos, pela habilidade em harmonizar o meio - exemplos de admirável competência profissional - e a Mariana Klopfer, por me ensinar inteligência emocional...

Aos amigos e parentes por todo o suporte emocional, especialmente à minha mãe, Alice Pamfilio, exemplo e referência, companheira de todos os momentos que me ensinou os valores e princípios que regem minha vida; e meu pai, Ruy Prado De Francischi, que apesar de não mais viver nesse mundo tridimensional, encoraja-me sempre.

Por respeito a todas as formas de vida, agradeço à natureza pelas vidas animais (confiando na evolução dos métodos) que possibilitaram a existência dos dados aqui apresentados.

Muito obrigada.

Índice

Resumo	pg. viii
Abstract	pg. ix
Introdução	pg. 1
Objetivos	pg. 27
Materiais e Métodos	pg. 28
Resultados	pg. 35
Discussão	pg. 44
Conclusões	pg. 61
Referências Bibliográficas	pg. 62
Apêndices	pg. 77

Resumo

Dietas hiperlipídicas (HL) são fatores de risco para doenças metabólicas. A alimentação fracionada (padrão *nibbling*) parece prevenir tais desordens, e dietas com poucas e volumosas refeições (padrão *gorging*) podem causar obesidade e picos na insulinemia. O objetivo deste estudo foi avaliar o desenvolvimento de obesidade, de intolerância à glicose e de dislipidemia em ratas submetidas a diferentes frequências de ingestão alimentar em dietas controle (11% de lipídeos) ou HL (39% de lipídeos). Ratas *Wistar* foram acompanhadas por 8 semanas, tendo sido divididas em 4 grupos: **CG** (controle *gorging*, com ingestão de ração comercial 1x/dia durante 2h/dia); **HLG** (HL *gorging*, com consumo de HL 1x/dia por 2h/dia); **CN** (controle *nibbling*, com acesso 24h/d à ração comercial) e **HLN** (HL *nibbling*, com acesso 24h/d à ração HL). O consumo alimentar foi limitado para igualar a ingestão energética entre os 4 grupos. Foram realizados OGTTs (testes orais de tolerância à glicose), dissecações e pesagens dos tecidos adiposos, extrações de gorduras dos tecidos, análises séricas e de glicogênio. Animais em HL apresentaram maior peso e maiores depósitos de tecido adiposo. A incorporação de gorduras na carcaça foi maior em **CG** ($88,1 \pm 21,0$ mg/g) que **CN** ($55,7 \pm 11,2$ mg/g), porém semelhante entre **HLG** ($101,9 \pm 19,2$ mg/g) e **HLN** ($101,3 \pm 14,3$ mg/g). **CG** e **CN** apresentaram maior conteúdo de glicogênio muscular que **HLG** e **HLN**. Grupos *gorging* apresentam maior teor de glicogênio hepático. Não foram detectadas diferenças na insulinemia, colesterolemia, trigliceridemia, albuminemia e nas concentrações de HDL-colesterol sérico, porém **HLG** apresentou a maior glicemia basal. A curva glicêmica de animais em HL apresentou glicemias mais elevadas que os controles. Houve prejuízo na tolerância à glicose também em resposta ao padrão *gorging*. O padrão *gorging* causou maior acúmulo de gorduras nos animais em dieta com restrição de gorduras, mas não aumentou o já eficiente acúmulo de tecido adiposo da alta ingestão de lipídeos. A associação da HL ao padrão *gorging* induziu prejuízos na tolerância à glicose. Estudos futuros serão importantes para melhor caracterizar a evolução da síndrome metabólica em resposta a estes comportamentos alimentares.

Abstract

Fat diets (HL) are risk factor for metabolic diseases. Frequent feeding (nibbling pattern) may prevent these disorders, and meal feeding (gorging) may cause obesity and insulinemia peaks. The aim of this study was to evaluate obesity and glucose intolerance development, and serum lipids in rats submitted to different feeding frequencies associated to HL (39% fat) and control diet (11%). Female Wistar rats were accompanied during 8 weeks divided into: CG (gorging control, one meal a day with stock diet for 2h/day); HLG (gorging fat, one meal a day with fat rich diet for 2h/day); CN (nibbling control, 24h/d access to stock diet); HLN (nibbling fat, 24h/d access to fat rich diet). Food intake was limited in order to match the energy intake among all groups. OGTT (Oral glucose tolerance test), adipose tissue dissection, lipid extraction, plasma and glycogen analyses were performed. HL animals were heavier and fatter than controls. Lipid incorporation into carcass fat were greater in CG ($88,1 \pm 21,0$ mg/g) than CN ($55,7 \pm 11,2$ mg/g), however HLG ($101,9 \pm 19,2$ mg/g) and HLN ($101,3 \pm 14,3$ mg/g) had the same fat amount in body carcass. CG and CN had more muscle glycogen content than HLG and HLN. Gorging groups showed heavier liver glycogen deposit. There were no differences in insulinemia, cholesterolemia, serum albumin and serum HDL-cholesterol, but HLG had the greatest basal serum glucose. OGTT showed greater glucose concentrations in HL animals than in controls. There was glucose tolerance impairment in gorging rats. Meal feeding increased the rate of fat deposition when the low-fat diet is given, but did not improve the already efficient utilization of the high-fat diet. The association between HL and gorging induced glucose tolerance impairment. Future studies are important to better understand the metabolic syndrome evolution consequent to these feeding behaviors.

1) Introdução

As doenças crônico-degenerativas, recentemente definidas como doenças não-transmissíveis, são consideradas graves problemas de saúde pública. A doença cardiovascular, por exemplo, é a principal causa de morte por doença entre os brasileiros (SBC 1999). No Brasil, as prevalências de diabetes mellitus e intolerância à glicose são igualmente altas (7,6%) se comparadas às de nações desenvolvidas, e São Paulo é a capital brasileira com maior número (9,7%) de diabéticos (Oliveira et al 1996; ADA 1999; SBD 1999).

Foram identificados como potenciais fatores de risco para estas doenças hábitos da cultura humana moderna tais como alimentação inadequada (Keys et al 1981; WHO 1998; Seidell 1999), excesso de gordura corporal, obesidade (Jung 1997; WHO 1995; WHO 1998), e sedentarismo (Blair et al 1996; Dengel et al 1998; Seidell 1999).

A obesidade é considerada uma epidemia mundial (WHO 1998; Popkin e Doak 1998). No caso do Brasil, as mudanças demográficas, socioeconômicas e epidemiológicas ao longo do tempo permitiram que ocorresse a denominada transição nos padrões nutricionais, com a diminuição progressiva da desnutrição e do aumento da obesidade (Monteiro et al 1995a; Francischi 2000; Francischi 2001b). As prevalências de obesidade entre adultos brasileiros vêm aumentando ao longo das décadas, passando de 5,7% em 1974 para 9,6% em 1989 e atingindo 11% da população em 1997 (Monteiro e Conde, 1999). Isso se torna um problema de saúde uma vez que a obesidade é um dos principais fatores de risco para inúmeras doenças prevalentes na sociedade moderna (Jung 1997), incluindo dislipidemia e diabetes mellitus, além da resistência à ação da insulina (ADA 1997). Já foi descrita uma síndrome clínica que resume a interação entre estas desordens metabólicas, a denominada síndrome metabólica ou X, caracterizada em diversos grupos populacionais (Hansen 1995; Defronzo e Ferrarini 1991).

A alimentação inadequada representa uma das maiores causas dessas desordens metabólicas. As tendências de transição nutricional ocorridas neste século em diferentes regiões do mundo convergem para uma dieta mais rica em gorduras (particularmente as de origem animal), açúcares e alimentos refinados (Monteiro et al 1995b). Ao mesmo tempo, essa dieta é reduzida em carboidratos complexos e fibras, sendo conhecida como "dieta ocidental" (Monteiro et al 1995b).

Infelizmente, ainda não estão disponíveis trabalhos que reflitam a realidade brasileira quanto às variações na ingestão alimentar ao longo dos anos, porém os dados norte-americanos reforçam que as

tendências estão se distanciando do ideal. Por exemplo, o consumo de carboidratos, segundo o *Nutrient Content of the US Food Supply* (1988), foi reduzido em cerca de 10% desde o início do século até 1975. O consumo de sacarose e demais adoçantes são atualmente a maior fonte de carboidratos na dieta do norte-americano (39,6%), sendo que em 1909 e 1913 compreendiam apenas 21,9%. O consumo de grãos também diminuiu significativamente: de 55,9% do total de carboidratos ingeridos no início do século para apenas 35,8% em 1985. Para proteínas, a recomendação é de 0,76 g/kg/dia ou 10 a 15% do valor calórico total (VCT), sendo que a ingestão média nos Estados Unidos é de 16,6%, e é quase o dobro da recomendada para o peso corporal (Mahan e Escott-Stump 1998). Uma das principais causas desse alto consumo protéico está no excesso de produtos de origem animal na alimentação, o que também pode causar o excesso de lipídios, já que a maioria destes possui alto teor de gorduras (Covián 1990), saturadas em especial. Quanto à ingestão de gorduras, as recomendações da NRC/RDA (1989) indicam que o consumo lipídico não deve ultrapassar 30% do VCT. Na população norte-americana, a ingestão média é de 37% do VCT (Mahan e Escott-Stump, 1998). Há indícios de que o padrão de alimentação hiperlipídica, hiperproteica e hipoglicídica esteja se repetindo também no Brasil. Estudos realizados por nosso grupo com mulheres obesas brasileiras reforçam esses dados (Francischi et al 1997; Pereira et al 1998; Francischi et al 1999a; Francischi et al 1999b; Klopfer et al 1999; Francischi et al 2000; Francischi et al 2001b). O original estudo de Sichieri (2002) correlacionou sobrepeso e obesidade a 3 padrões dietéticos em adultos da cidade do Rio de Janeiro: dieta variada (com vários alimentos distribuídos proporcionalmente), dieta tradicional brasileira (baseada principalmente em arroz e feijão) e dieta ocidental (rica em gorduras e açúcar de adição). O estudo revelou que a dieta tradicional brasileira esteve associada ao menor risco de sobrepeso e obesidade, mesmo com os ajustes estatísticos para idade, atividade física e ocupação.

Muitos trabalhos apontam a elevada quantidade de gorduras na dieta como principal fator de risco para obesidade (Seidell 1998; Austrup 1999; Lissner 1999) e doenças metabólicas, tais como as doenças cardiovasculares (SBC 1999; Higuera et al 1992; Linchestein 1998). Indivíduos diabéticos tipo 2 apresentam ingestão percentual de gorduras maior do que indivíduos controles ajustados estatisticamente pelo IMC (índice de massa corporal) (Marshall et al 1991). Ambas ingestão de gordura total e ingestão percentual de ácidos graxos saturados apresentaram correlações positivas com a insulinemia de jejum e pós-prandial, mesmo com os ajustes estatísticos para adiposidade (Parker et al 1993). Essas correlações positivas foram atenuadas quando ajustadas estatisticamente para a presença de sedentarismo (Mayer et al 1993). O estudo da hiperinsulinemia é de grande interesse para a comunidade científica, uma vez que esta alteração hormonal aparenta ser a causa de inúmeras doenças metabólicas, tais como o próprio diabetes mellitus, as doenças cardiovasculares e a hipertensão (DeFronzo e Ferrarini 1991).

A dieta representa fator de risco para alterações metabólicas não apenas pela sua composição inadequada. O comportamento alimentar também tem forte influência, principalmente quando se considera a frequência de ingestão alimentar. Na década de 30, Ellis (1934) sugeriu que o aumento na frequência alimentar seria vantajoso na administração de insulina e glicose em casos complicados de diabetes mellitus. Há quase 40 anos, Fabry et al (1964) encontraram diferenças metabólicas significativas estudando 379 homens divididos entre os que consumiam 3 (ou menos) refeições por dia e os que ingeriam 5 (ou mais) refeições diariamente. No primeiro grupo, o excesso de peso, a hipercolesterolemia e o prejuízo na tolerância à glicose foram muito maior. Em estudos transversais, já foi demonstrado que o aumento na frequência de ingestão alimentar está associado à diminuição nas concentrações plasmáticas de colesterol (Edelstein et al 1992) e demais lipídios plasmáticos (Mann 1997). Além disso, estudos realizados com 2000 indivíduos mostraram que a frequência alimentar está inversamente relacionada à adiposidade, excluindo os efeitos da ingestão calórica (Metzner et al 1977).

Assim, percebe-se que mudanças no padrão alimentar estão intimamente relacionadas a desordens metabólicas de alta prevalência nas sociedades atuais. Muitas dessas doenças já foram definidas como problema de saúde pública. No item a seguir estão abordadas algumas dessas alterações e suas relações com a dieta.

1.1) Alterações Metabólicas

1.1.1) Intolerância à glicose

O diabetes mellitus é um grupo de doenças metabólicas caracterizado por defeitos na secreção, ação da insulina ou ambos, levando a hiperglicemia crônica que é, em longo prazo, causa de doenças em vários órgãos (como olhos e rins), nervos e em todo o sistema cardiovascular (WHO 1985; ADA 1997). Os dois tipos principais de diabetes são: tipo 1, que é originário da destruição auto-imune nas células pancreáticas produtoras de insulina (células-beta) levando geralmente a uma deficiência sistêmica desse hormônio; e tipo 2, que corresponde predominantemente à resistência à ação da insulina (ADA 1997; WHO 1985). Resistência à insulina significa uma diminuição na capacidade da insulina de estimular a utilização de glicose (Kim et al 1996), seja com deficiência de insulina ou com defeito na sua secreção e/ou utilização (ADA 1997). Há também um estágio intermediário entre a homeostase

normal da glicose e o diabetes, que é a intolerância à glicose ou tolerância à glicose prejudicada ou diminuída (ADA 1997).

Fatores ambientais estão descritos como causa dessa doença, tais como infecções, citotoxicidade (ou outras lesões nas células-beta pancreáticas), sedentarismo, obesidade, desnutrição, estresse, medicamentos, hormônios, transtornos pancreáticos, entre outros (WHO 1985). O diabetes tipo 2 é o mais comum, atingindo mais de 90% dos casos de diabetes (Linchestein et al 1998), e é o tipo de diabetes associado ao estilo de vida e aos hábitos da cultura moderna (Seidell 1999).

O transporte de glicose para as células de mamíferos é essencial para a sobrevivência. Grande parte da glicose circulante no estado pós-absortivo é captada por órgãos independentes da insulina: cérebro (50%) e órgãos esplâncnicos (25%), sendo que apenas o restante (25%) é utilizado em tecidos dependentes de insulina, a maioria pela musculatura esquelética e o restante pelo tecido adiposo (DeFronzo 1997). No entanto, qualquer desequilíbrio nesta captação de glicose periférica pode levar à intolerância à glicose ou mesmo ao diabetes mellitus. A principal forma de entrada de glicose nas células é através de difusão facilitada, com participação de proteínas de membrana específicas, tais como GLUT1 e GLUT4 (Kahn 1992 e 1994; Holman et al 1990). A ação normal da insulina consiste num espectro variado de reações, com diferentes controles metabólicos das células-alvo (Häring 1991). O início da ação insulínica ocorre através de sua ligação com receptores da membrana plasmática, e uma cascata de sinais intracelulares ocorre pós-ligação, envolvendo principalmente reações de fosforilações citossólicas (Häring 1991; Kahn 1994), as quais provocam a exocitose das vesículas contendo GLUT, que finalmente captam a glicose circulante para o interior da célula.

1.1.1.1) Defeitos na secreção e na ação insulínica

Três órgãos estão potencialmente envolvidos no controle da glicemia, e quaisquer anormalidades fisiopatológicas nestes podem levar a hiperglicemia: fígado (aumento da produção de glicose), pâncreas (defeito na secreção de insulina) e tecidos-alvo (resistência periférica à insulina) (Olefsky e Nolan 1995).

Muitos estudos transversais e prospectivos sugerem que a resistência à insulina no músculo esquelético é um dos primeiros eventos no desenvolvimento do diabetes tipo 2, sendo possivelmente o primeiro defeito e a causa da doença (Eriksson et al 1989; Warran et al 1990).

Por outro lado, defeitos na secreção de insulina têm sido recentemente ressaltados como de suma importância para o desenvolvimento da intolerância à glicose. Acredita-se que, para o desenvolvimento completo do diabetes mellitus, ambos os defeitos na secreção e na ação da insulina

devam ocorrer simultaneamente (DeFronzo 1997). Mesmo em presença de resistência à insulina, o pâncreas pode supercompensar este defeito, secretando uma quantidade superior de insulina, que garanta a captação normal de glicose e mantenha os níveis glicêmicos dentro da normalidade. A hiperglicemia somente se manifesta a partir do momento em que o pâncreas não é mais capaz de sustentar as altas taxas secretoras de insulina, levando à falência das células-beta. Paralelamente, a resistência pode se tornar tão severa (uma vez que a hiperinsulinemia leva ao *down-regulation* do receptor de insulina periférico, piorando ainda mais a resistência à ação insulínica) a ponto de a supercompensação pancreática não ser mais capaz de sustentar os níveis basais de glicose (DeFronzo 1997).

Por sua vez, a hiperinsulinemia é a principal causa de um conjunto de desordens metabólicas (DeFronzo e Ferrarini 1991) definido como síndrome metabólica (Hauner 1995), na qual figuram as dislipidemias, a hipertensão, o próprio diabetes, a aterosclerose (DeFronzo e Ferrannini 1991; Björntorp 1999), além de certos tipos de neoplasias (Stoll 1995).

Há várias hipóteses para o desenvolvimento da resistência à insulina e diabetes tipo 2. Já se sabe que a contribuição genética é pequena (Olefsky e Nolan 1995), o que no diabetes tipo 1 é bastante comum (Kukreja e Maclaren 1999).

Acredita-se que o local primário da resistência à insulina situe-se em algum ponto entre a cascata de ação da insulina, o receptor insulínico e a proteína transportadora de glicose (Olefsky e Nolan 1995). Possíveis mecanismos incluem: diminuição na atividade da glicogênio sintetase (EC. 2.4.1.11), obesidade, aumento no conteúdo de triacilgliceróis e ácidos graxos, alterações no fluxo sanguíneo muscular e modificações histológicas no tipo de fibras, aumento na atividade do sistema nervoso simpático, diminuição na atividade da enzima ATPase cálcio dependente, aumento na atividade da bomba sódio-potássio, por exemplo (DeFronzo 1997). Há de se ressaltar também a glicotoxicidade, uma vez que própria hiperglicemia prejudica a captação de glicose, sendo que a baixa concentração glicêmica ativa seu próprio transporte por um mecanismo adicional, que envolve síntese protéica (Young et al 1986). No entanto, independentemente da etiologia da resistência à insulina, as células-beta irão responder a este prejuízo na ação hormonal aumentando a secreção insulínica, o que cronicamente piorará a resistência. A “exaustão” das células-beta pode ainda piorar o quadro de diabetes que começa a se manifestar, gerando uma resposta de retroalimentação sistêmica, e uma série de eventos como aumento na produção hepática de glicose e agravamento de defeitos nos receptores insulínicos (DeFronzo 1997). O esquema a seguir procura demonstrar a seqüência de eventos patogênicos no diabetes mellitus tipo 2 que culminam na deficiência de insulina e na resistência à ação desta.

Uma série de eventos metabólicos quanto à utilização da glicose é comum aos tecidos-alvo e ao pâncreas. O aumento na glicemia no estado pós-absortivo e sua captação pelas células, especificamente

pelas células-beta através do GLUT-2, leva à sua fosforilação via hexoquinase (EC. 2.7.1.1), cuja ativação é voltagem-dependente e influenciada pelo potencial elétrico da membrana mitocondrial interna. Defeitos mitocondriais podem então alterar a fosforilação da glicose e conseqüentemente a sua captação. A glicose-6-fosfato é um importantíssimo intermediário no metabolismo energético, podendo ser utilizada na via glicolítica, na síntese de glicogênio ou na via das pentoses. A síntese de ADP (difosfato de adenosina) resultante da transferência de seu grupamento fosfato para a glicose também estimula as reações no metabolismo oxidativo, como a ativação da citrato sintase (EC. 4.1.3.7). A redução das coenzimas NAD e FAD também é estimulada, bem como a formação de creatina fosfato mitocondrial. O aumento na síntese de ATP (trifosfato de adenosina) ocorre próximo aos canais de potássio ATP dependentes, que são fechados, causando a despolarização da membrana e a abertura dos canais de cálcio. No caso das células-beta, a conseqüência imediata é o aumento de cálcio citossólico e mais tardiamente mitocondrial, levando à exocitose das vesículas contendo insulina (Gerbitz et al 1996). Como se sabe, os mesmos eventos metabólicos ocorrem na musculatura para a produção energética. De fato, parece sensato que quaisquer defeitos no minucioso controle do metabolismo energético, tanto nos tecidos-alvo como nas células-beta, possam desencadear o diabetes mellitus (Gerbitz et al 1996). Quanto à resistência à insulina, várias alterações metabólicas nas células-alvo, principalmente sobre o metabolismo lipídico, já foram propostas como causas desta. Nas células-beta, alterações metabólicas como glicolipotoxicidade também já foram citadas (esta teoria será abordada mais especificamente no tópico seguinte) (DeFronzo 1997). Sabe-se que manipulações dietéticas que alteram a quantidade e a composição de macronutrientes desempenham importantes alterações na sensibilidade e resposta à insulina (Kahn 1994; Franz et al 1994; Storlien 1999) e na secreção desta (Ruggeri 1999; Takahashi et al 1991). A freqüência de ingestão de alimentos também regula o controle das concentrações de hormônios catabólicos e anabólicos (Cohn e Joseph 1960) e a obesidade (ADA 1997; Jung 1997). O consumo alimentar intermitente está associado a grandes alterações metabólicas, inclusive na secreção insulínica nas células-beta (Santos et al 1989) e na intolerância à glicose propriamente dita (Jenkins 1997). A seguir estão detalhadas as alterações fisiopatológicas observadas na intolerância à glicose, induzidas pela obesidade, pela ingestão alimentar, por desvios metabólicos ou por suas interações.

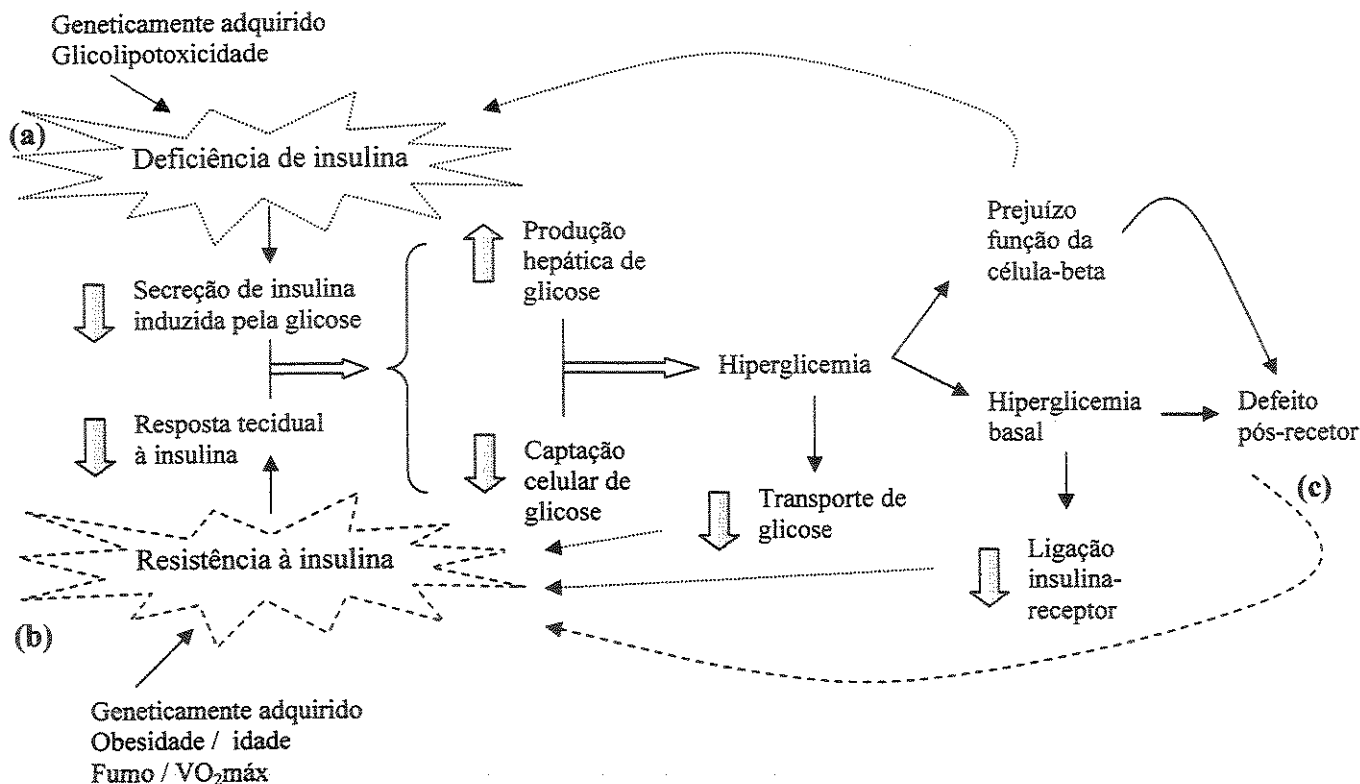


Figura 1: Sequência patogênica de eventos que levam à resistência à insulina no diabetes tipo 2. Note-se que, se o defeito primário residir nas células-beta (a) ou nos tecidos periféricos (b), o desenvolvimento da resistência à insulina (c) se manifestará ou se agravará. Quando a hiperglicemia de jejum ocorre, ambos os defeitos na ação e secreção estão presentes. Linhas pontilhadas representam *feedback* positivo, que resultam a perpetuação do defeito inicial (adaptado de DeFronzo 1997).

1.1.2) Obesidade e Dietas Hiperlipídicas

A obesidade não é uma desordem singular, e sim um grupo heterogêneo de condições com múltiplas causas que em última análise convergem para o fenótipo obeso (Jebb 1997). A ocorrência da obesidade reflete a interação entre uma predisposição genética e fatores dietéticos e ambientais (WHO 1990 e 1998). Existem poucas evidências sugerindo que algumas populações são mais suscetíveis à obesidade por motivos genéticos, o que enfatiza o fato de que a diferença na sua prevalência em diferentes grupos populacionais está muito mais atribuída aos chamados fatores ambientais (WHO 1990; Jebb, 1999), em especial à dieta (Rolls e Shide 1992; WHO 1990 e 1998) e à atividade física (WHO

1990 e 1998; Popkin e Doak 1998; Grundy 1998; Schulz e Schoeller 1994; Haapanen et al 1997). De fato, nossos genes não mudaram substancialmente nos últimos 20 anos de forma que justificasse a epidemia atual da obesidade (Hill e Petters 1998; Jebb 1999).

No entanto, uma recente hipótese considera a presença persistente de genes de obesidade e diabetes mellitus tipo 2 no genoma humano que garantiram e garantem uma série de vantagens evolutivas. Essa hipótese ressalta que apenas recentemente tais genes estão se manifestando no fenótipo obeso em função da alta expectativa de vida e da abundância de alimentos por um longo período, o que está acontecendo pela primeira vez na história da humanidade (Lev-ran 1999). Tais genes receberam o nome de *Thrifty* genótipo e seus portadores são mais capazes de conservar energia e possuem forte defesa contra a perda de peso, justificada pela afirmativa de que, evolutivamente, sempre foi melhor ser moderadamente obeso do que magro, uma vez que os problemas resultantes do excesso de gordura corporal não se manifestavam cronicamente em função da baixa expectativa de vida (Lev-ran 1999).

O grande interesse dos estudos da etiologia e do tratamento da obesidade é primordialmente o fato de a obesidade causar aumento na ocorrência de uma série de doenças associadas, como as cardiovasculares, respiratórias, gastrointestinais, metabólicas, renais, neoplásicas e ortopédicas (Jung 1997; WHO 1998). A susceptibilidade a doenças metabólicas não depende apenas do excesso de peso, mas também da distribuição da gordura corporal, principalmente da presença de tecido adiposo intra-abdominal (Kissebah et al 1982; Carey et al 1996; Gower et al 1998; WHO 1998).

Muitos estudos procuraram identificar a relação entre excesso de peso e intolerância à glicose e já se sabe que a obesidade está associada ao aumento nas concentrações de vários hormônios e citocinas que reduzem a sensibilidade à insulina como corticoesteróides, andrógenos, TNF- α (*fator de necrose tumoral alfa*), leptina e o receptor nuclear PPAR γ (*peroxisome proliferator-activated receptor gamma*) (Prins 1997). Além dessas moléculas, cujos mecanismos ainda não foram totalmente elucidados, sabe-se que o aumento nas concentrações de triacilgliceróis e ácidos graxos livres, comumente vistos em obesos, também interfere na resposta insulínica nos tecidos-alvo (Prins 1997; Vessby 1999). O recente estudo de Jacob et al (1999) verificou, através de ressonância magnética, que indivíduos diabéticos tipo 2 possuem maior acúmulo intramiocelular de lipídios do que os controles saudáveis ajustados para sexo, idade, índice de massa corporal, percentual de gordura corporal, relação cintura-quadril e condições físicas.

O aumento da oxidação lipídica em pessoas obesas (Golay et al 1984) implica a preferência de utilização de ácidos graxos livres derivados dos estoques de triacilgliceróis como substrato energético (Golay et al 1984), o que pode ser responsável pela diminuição na oxidação de glicose (Felber e Golay 1995). Isto levaria a um *feedback* negativo do glicogênio muscular e hepático sobre a atividade da glicogênio sintetase (EC. 2.4.1.11) e conseqüentemente sobre o estoque de glicose, podendo causar

intolerância à glicose e resistência à ação da insulina (Felber e Golay 1995). Pedersen et al (1993) também observaram que obesos com acúmulo de gordura visceral apresentam atividade reduzida da glicogênio sintetase no músculo esquelético e concomitante resistência à insulina.

De fato, a questão da oxidação de ácidos graxos livres e as modificações no metabolismo energético em função da obesidade têm sido muito estudadas. Um ponto importante a ser considerado é o estudo das relações de equilíbrio energético e seu efeito na etiologia da obesidade, bem como na manutenção do excesso de peso. Uma das teorias considera que não só os totais de energia ingerida e gasta regulam a quantidade dos estoques corporais, como proposto por Flatt (1987 e 1995) e aceito por muitos autores (Melby et al 1998; Swinburn e Ravussin 1993; Tremblay e Alméras 1995; Prentice 1998). Segundo essa explicação, o balanço de cada macronutriente parece possuir um rigoroso controle para ajustar seu consumo com sua oxidação (e vice-versa) e manter um estado de equilíbrio: Flatt (1987) afirma que o balanço de nitrogênio e de carboidratos é facilitado pela capacidade do organismo em ajustar as taxas de oxidação de aminoácidos e de glicose, respectivamente, aos seus consumos alimentares. No caso das gorduras, esse ajuste é bem menos preciso e o aumento no seu consumo não é eficiente em estimular a sua oxidação. Além disso, a eficiência com que o lipídio da dieta é estocado como gordura corporal é alta, cerca de 96% (WHO 1998). Como o aumento no consumo de gorduras não aumenta sua oxidação agudamente, o organismo aumenta os estoques de gordura corporal, sendo que a variação nas quantidades desta está diretamente ligada à oxidação lipídica. Isto leva ao aumento na oxidação de ácidos graxos livres apesar dos mecanismos não estarem claros (WHO 1998). Como exemplo, um aumento na ingestão lipídica induzirá ao balanço lipídico positivo e, conseqüentemente, ao acúmulo na massa adiposa corporal (Flatt 1987 e 1995). Como a gordura corporal aumenta, a oxidação de lipídios também aumenta. A massa de gordura corporal continuará em expansão até o ponto em que a oxidação desta se iguale a sua ingestão e, então, a quantidade de gordura corporal se estabilizará em um novo nível, mais alto que o anterior (Melby et al 1998; WHO 1998).

Em animais, os estudos indicam que a alimentação hiperlipídica é um componente importante na etiologia da obesidade (West e York 1998). A obesidade em animais pode ser induzida de diversas formas, sendo que a dietética é a mais adequada para a reprodução dos fatores ambientais no desequilíbrio energético e síndromes associadas observadas em humanos (Sclafani e Springer 1976). Dietas hiperlipídicas já levaram comprovadamente ao excesso de gordura corporal em macacos, cães, suínos, esquilos, camundongos e ratos (West e York 1998), sendo que as causas dessa resposta ainda não estão claras: acredita-se que dietas hiperlipídicas conduzam à hiperfagia ou causem efeitos metabólicos independentes desta (West e York 1998).

O motivo pelo qual os lipídios da dieta podem conduzir à hiperfagia deriva principalmente das suas propriedades organolépticas (Prentice 1998), tais como alta palatabilidade e textura característica (Tagle 1981; Rolls e Shide 1992; Pike 1950). Inclusive em ratos, uma dieta hiperlipídica é

preferencialmente consumida quando os animais podem escolher entre três rações, sendo cada uma fonte de um dos macronutrientes (Miller et al 1994). Fisiologicamente, dentre todos os outros macronutrientes, os lipídios são os que apresentam a maior densidade energética e a maior capacidade de estoque no organismo, além de possuir a menor capacidade de suprimir a fome (WHO 1998). Além disso, ao contrário dos carboidratos e proteínas, os lipídios não possuem nenhuma via metabólica que transfira seu excesso para outro compartimento corporal (WHO 1998). Como já afirmado, também apresentam uma auto-regulação ineficiente para estimular sua oxidação em resposta à sua ingestão (Flatt 1987 e 1995; WHO 1998). O efeito dos lipídios sobre a saciedade ainda requer estudos futuros, uma vez que trabalhos mostram que carboidratos induzem muito mais à saciedade do que os lipídios (Rolls et al 1994; Rolls 1995) enquanto outros estudos encontraram efeitos semelhantes dos três macronutrientes sobre o apetite (Graaf et al 1992). Ao menos em obesos, pode ser que ocorra uma relativa insensibilidade à saciedade induzida pela gordura, o que pode causar o desenvolvimento e manutenção da obesidade (Rolls et al 1994). Há de se considerar também a participação de outras substâncias na regulação da saciedade, apesar de recentemente isoladas. A leptina, por exemplo, é um hormônio produzido no tecido adiposo, produto do gene *ob*, e participa desta resposta no sistema nervoso central. Interagindo de forma sinérgica com a colecistoquinina (CCK), a leptina regula a supressão do desejo da alimentação, tanto em curto como em longo prazo (Barrachina et al 1997; Konturek et al 1999; Emond et al 1999; Matson e Ritter, 1999).

Por outro lado, estudos demonstraram desenvolvimento de obesidade em animais alimentados com dietas hiperlipídicas em comparação aos controles com ração normal em quantidades isocalóricas (West e York 1998). Assim, o excesso de lipídios pode desencadear a obesidade independentemente da hiperfagia, através de efeitos metabólicos que podem estar totalmente relacionados à teoria de Flatt (1987 e 1995). Tais efeitos também podem estar associados aos desvios que levariam à intolerância à glicose em consequência do excesso de peso e da alimentação rica em lipídios.

1.1.2.1) Alimentação hiperlipídica: efeitos na secreção e ação insulínica

Em ratos alimentados com excesso de gordura já se observou desenvolvimento de obesidade (West e York 1998; Segué et al 1994; Gianotti et al 1988; Sclafani e Springer 1976; Storlien et al 1986), como afirmado anteriormente, e redução na ação insulínica sistêmica, muscular e em adipócitos (Grundler e Thenen 1982; Miller et al 1985; Storlien et al 1986; Storlien et al 1996; Rocchini et al 1997; Han et al 1997; Wilkes et al 1998; Pagliassotti et al 1997; Pagliassotti et al 2000). Esses efeitos aparentam ser independentes entre si (Storlien et al 1996). Apesar de bem menos estudadas, também já

foram observadas alterações no pâncreas endócrino em consequência do consumo crônico de dietas hiperlipídicas, com prejuízo na produção e na secreção de insulina pelas células-beta (Ruggeri 1999).

Iniciando pelos efeitos do consumo hiperlipídico sobre o pâncreas endócrino, Takahashi et al (1991) observaram que ilhotas isoladas de ratos que receberam dieta hiperlipídica por 5 semanas secretaram menos insulina quando estimuladas com altas concentrações de glicose. No entanto, este prejuízo secretor também foi observado em dietas ricas em proteínas e ricas em carboidratos, de forma que apenas os animais alimentados de forma balanceada foram os que revelaram maior secreção de insulina.

Ratos *Wistar* acompanhados desde o desmame até a idade adulta divididos em dois grupos consumindo dieta com 35% ou 5% de lipídios (e 20% de proteínas em ambas) apresentaram melhor tolerância à glicose quando consumiram cronicamente a dieta hipolipídica (Ruggeri 1999). Uma série de parâmetros foi avaliada, e todos indicam uma maior eficiência do pâncreas endócrino em função da dieta pobre em lipídios: maior secreção de insulina (durante o teste de tolerância à glicose intravenosa), maior conteúdo pancreático de insulina, maior liberação de insulina no estudo *in vitro* com ilhotas de Langerhans isoladas e estimuladas com concentrações crescentes de glicose, maior área no perfil citoplasmático das células-beta, ou seja, maior número de grânulos de insulina nestas células (Ruggeri 1999).

Os mecanismos envolvidos nas alterações das células-beta em função das dietas hiperlipídicas ainda não estão totalmente compreendidos na literatura. A hipótese mais ressaltada considera a glicolipotoxicidade na célula-beta como causa do distúrbio (DeFronzo et al 1997). Como apresentado, há um rigoroso controle metabólico para a extrusão das vesículas de insulina em função da utilização da glicose. No entanto, a produção de ATP oriunda da oxidação de ácidos graxos também estimula a secreção da insulina (DeFronzo et al 1997). Em função da maior oferta de ácidos graxos, há o aumento nas concentrações citossólica de citrato e consequentemente de malonil-CoA, que regula as taxas de síntese de lipídios. Uma observação importante sobre esta molécula, malonil-CoA, a relaciona à resistência à insulina: acredita-se que esta possa regular sinais de transdução, sinalizando o metabolismo energético nas células e, de alguma forma ainda não elucidada, causando a resistência à ação insulínica (Ruderman et al 1999). Nas células-beta, o aumento nas concentrações de malonil-CoA pelo aumento no metabolismo de glicose e pela maior oferta de ácidos graxos, leva à inibição no sistema de transporte de ácidos graxos para a mitocôndria (sistema CPT – carnitina palmitoil transferase; EC. 2.3.1.7), aumentando a concentração de ácidos graxos livres no citossol, os quais ativam a exocitose das vesículas de insulina diretamente ou, indiretamente, aumentam as concentrações de ácido fosfatídico e de diacilglicerol, que ativam isoformas da proteína quinase C que participam desta exocitose (DeFronzo 1997). Parece bastante lógico que ácidos graxos também sejam secretagogos de insulina, mesmo que em menor grau que a glicose, uma vez que o hormônio é fundamental para a

lipogênese. De fato, isto ocorre agudamente (Carpentier et al 1999). Por outro lado, a crônica exposição das células-beta aos ácidos graxos pode causar um prejuízo na secreção insulínica (DeFronzo 1997; Carpentier et al 1999). Uma das hipóteses é a de que o aumento nas concentrações de citrato inibiria o metabolismo da glicose pelo ciclo de Randle (Randle 1963), o que por si só já diminuiria a secreção de insulina. Além disso, a expressão de alguns genes também pode ser alterada pela crônica exposição aos acil-CoA, especialmente *downregulation* na expressão da acetil-CoA carboxilase (EC. 6.4.1.2) (a enzima que condensa acetil-CoA a malonil-CoA) e *upregulation* da CPT-1 (DeFronzo 1997). O resultado seria um aumento na oxidação de acil-CoA, diminuindo a concentração citossólica de ácidos graxos livres e, conseqüentemente, diminuindo a secreção insulínica (DeFronzo 1997). Paralelamente, quando estas interações metabólicas são observadas no miócito e no hepatócito, respectivamente ocorrem aumento nas chances de resistência à insulina e aumento na neoglicogênese, piorando ainda mais o quadro de diabetes (DeFronzo 1997). A piruvato carboxilase (EC. 6.4.1.1), enzima que converte piruvato em oxaloacetato, também aparenta participar do transporte de acetil-CoA para fora da mitocôndria, na lançadeira citrato-piruvato, interagindo também na regulação da secreção de insulina (Curi et al 1991).

Com relação aos tecidos periféricos, a maioria dos estudos da ingestão hiperlipídica enfatiza as alterações na ação da insulina. Já foram observadas tais alterações em ratos com muito pouco tempo de experimento, como 7 dias (Miller et al 1985), 10 dias (Grundlegger e Thenen 1982), 3 semanas (Wilkes et al 1998) ou 4 semanas (Han et al 1997). Han et al (1997) desenvolveu as características da síndrome de obesidade visceral em ratos alimentados com excesso de lipídios por 32 semanas. Em cães, a captação de glicose, medida através de *clamp* euglicêmico-hiperinsulinêmico, diminuiu de 72 ± 6 para $49 \pm 7 \mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ após 1 semana de alimentação hiperlipídica, e para $29 \pm 3 \mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ após 3 semanas (Rocchini et al 1997). O uso de um análogo de glicose marcado (2-deoxiglicose- H^3) possibilitou o estudo da ação da insulina em tecidos isoladamente (Hansen et al 1994). Usando esta técnica, trabalhos demonstraram que a resistência à insulina após crônica alimentação hiperlipídica ocorre primeiramente no fígado em um período de tempo muito curto (3 dias), seguido de prejuízo na ação insulínica em diversos músculos esqueléticos (Oakes et al 1997; Kraegen et al 1991) e nos tecidos adiposos branco e marrom em 3 semanas (Kraegen et al 1991).

Esses efeitos são dependentes não apenas da quantidade de gordura ingerida mas também do tipo, em especial quanto ao tamanho e número de insaturações (Stein et al 1997). Quanto maior a relação entre lipídios ômega-6 (ω -6) e ômega-3 (ω -3) ingeridos na dieta, maior a insulinemia de jejum, apontando para um efeito protetor de lipídios poliinsaturados do tipo ω -3 (van Amelsvoort et al 1988; Storlien et al 1996). A exposição prolongada de adipócitos a ácidos graxos saturados causou resistência à ação da insulina nestas células (Hunnicut et al 1994).

Muitos estudos tentaram identificar as causas das alterações na captação de glicose em função da alimentação hiperlipídica, no entanto ainda há muita controvérsia. Provavelmente o tipo de gordura ingerida irá influenciar a composição lipídica das membranas celulares, alterando a sinalização da insulina (Storlien et al 1996). Acredita-se também que uma alteração nos transportadores de glicose possa ser a causa do defeito na ação da insulina, principalmente pela redução nas atividades do transportador de glicose GLUT 4 em músculos após a administração de dietas hiperlipídicas em ratos (Zierath et al 1997), apesar de outros autores não observarem esta relação (Han et al 1997). Hansen et al (1998) estudaram possíveis alterações em algumas vias da cascata de sinalização insulínica em consequência do consumo crônico de dietas hiperlipídicas. Incubando músculos epitrocleares de ratos alimentados por 8 ou 30 semanas com tal dieta, os autores não observaram alterações na captação de glicose via GLUT-1, no transporte de aminoácidos pelo sistema A, no conteúdo de receptores de insulina e de IRS-1 (substrato primário do receptor de insulina), e na atividade de tirosina quinase do receptor de insulina (apenas nas 8 semanas, já que houve redução desta atividade nos animais acompanhados por 30 semanas). No entanto, o resultado mais interessante observado pelos autores é que, em 8 semanas de alimentação rica em lipídios, houve redução na translocação de GLUT-4 tanto mediada pela insulina como pela contração muscular.

Outra teoria é quanto ao grande aumento de triacilgliceróis em tecidos musculares e/ou de ácidos graxos livres plasmáticos em consequência da alimentação hiperlipídica crônica, o que levaria ao aumento na oxidação de lipídios e conseqüente inibição da captação de glicose pela interação no ciclo glicose-ácidos graxos livres (Randle 1963; Storlien et al 1991; Storlien et al 1993; Bryson et al 1995; Kim et al 1996; Pan et al 1997; Oakes et al 1997), como apresentado anteriormente em obesos. Estudando o metabolismo de glicose e ácidos graxos livres, Park et al (1998) notaram, através de *clamp* euglicêmico hiperinsulinêmico com infusão de lipídios, que o aumento na disponibilidade de ácidos graxos livres diminui a glicólise sistemicamente. Após 2 horas da infusão de lipídios, já se observou redução da captação de glicose induzida pela insulina, com redução na síntese de glicogênio e diminuição na atividade da glicogênio sintetase (EC. 2.4.1.11). Essa interação no metabolismo de carboidratos e lipídios já foi observada em pacientes diabéticos tipo 2 (Fraze et al 1985; Boden e Chen 1995).

No entanto, essa interação ainda não é consenso na literatura como a causa do diabetes tipo 2. O grupo do Dr. J. Holloszy estudando ratos alimentados com excesso de lipídios encontrou resistência à insulina em músculos incubados em situação de anoxia, o que levou os autores a concluir que o aumento na atividade do ciclo glicose-ácidos graxos não é o responsável pela patogênese da resistência à insulina (Han et al 1997).

Uma outra hipótese que ainda não foi muito estudada refere-se ao aumento na via das hexosaminas, o que dessensibilizaria o sistema de transporte de glicose (Marshall et al 1991). Sabe-se

que diabéticos apresentam maior concentração plasmática de aminoácidos de cadeia ramificada e maior neoglicogênese a partir da alanina (Felig 1975), e o clássico estudo de Felig et al (1969) demonstrou alterações nas quais obesos também apresentavam elevadas concentrações plasmáticas de aminoácidos de cadeia ramificada em relação ao grupo de peso normal, fato também observado por Adibi (1968) e Forlani et al (1984). Sabe-se que a síntese de glutamina pela musculatura esquelética é uma importante estratégia para a retirada de amônia deste tecido, cuja concentração se eleva em consequência do aumento no consumo de aminoácidos para o metabolismo energético (Di Pasquale 1997). Traxinger e Marshall (1989) acreditam que a transferência de grupos amínicos da glutamina para a frutose-6-fosfato, formando a glicosamina-6-fosfato, pela GFAT (glutamina:frutose-6-fosfato aminotransferase - EC. 2.6.1.16), diminui a sensibilidade à insulina, uma vez que esta molécula parece dessensibilizar o sistema de transporte de glicose, através de glicosilação. A ligação entre esses estudos e a alimentação hiperlipídica refere-se ao aumento no metabolismo oxidativo em consequência da maior disponibilidade de ácidos graxos (Golay, 1984; Felber e Golay 1995; Oakes et al 1997; Cooling e Blundell 1998). Esse aumento no metabolismo oxidativo exigiria concentrações adequadas de intermediários do ciclo do ácido cítrico para a manutenção de sua atividade (Newsholme e Leech 1988), os quais podem ser gerados pela glicose ou por certos aminoácidos (Newsholme e Leech 1988; Lancha Jr 1993). Tendo em vista que uma alimentação hiperlipídica é quase sempre hipoglicídica (Linchestein et al 1998), e que indivíduos que consomem excesso de lipídios na dieta tendem a apresentar também maior ingestão de proteínas (Cooling e Blundell 1998), a não disponibilidade da glicose para atuar também no metabolismo oxidativo levaria a um aumento na oxidação de aminoácidos, aumentando a transferência de seus grupamentos amínicos. O resultado seria o aumento na síntese de glutamina e consequentemente de glicosamina, levando finalmente à alteração no receptor de insulina (Lancha Jr. 1996; Lancha Jr. 1997; Lancha Jr. 2002). Vale ressaltar que essa hipótese torna-se viável também para outras condições em que há prejuízo na oferta de carboidratos, como em condições de depleção de glicogênio observada durante o jejum.

Essa hipótese ainda não foi demonstrada, mas alguns indícios sugerem que seja a ligação inclusive entre obesidade e diabetes tipo 2. Entretanto, esse campo de investigação não apresenta muitos estudos e um dos poucos grupos que investigam esse tema não encontrou as diferenças no metabolismo de aminoácidos em ratos com presença ou não de obesidade, submetidos a dietas hiperlipídicas do tipo “cafeteria” (Gianotti et al 1990; Picó et al 1991).

O jejum também induz a alterações no metabolismo de aminoácidos características de pessoas obesas ou diabéticas (Felig 1975). Permanecer muitas horas sem alimentação implica severas alterações fisiológicas, enfatizando que não apenas a composição da dieta, em termos quantitativos e qualitativos, é importante para os desvios no metabolismo. O estudo da frequência com que os nutrientes atingem as células do nosso organismo é essencial para a compreensão desses distúrbios metabólicos. De fato,

alterações nas taxas de oferta e distribuição e suas implicações metabólicas vêm sendo debatidas há muito tempo, e a seguir estão descritos os principais estudos sobre esse tema.

1.1.3) Frequência de Ingestão Alimentar

É bastante antigo o interesse nos efeitos da alteração na frequência de ingestão alimentar sobre o metabolismo intermediário de indivíduos normais (Nunes e Canham 1963; Fabry e Tepperman 1970), obesos (Fabry e Tepperman 1970; Bray 1972), hiperlipidêmicos (Nunes e Canham 1963; Fabry e Tepperman 1970) e diabéticos (Ellis 1934; Nunes e Canham 1963).

No entanto, investigações sobre esse tema são complicadas por questões metodológicas, principalmente devido à fidedignidade do relato alimentar (Gatemby 1997), já que frequentemente observam-se sub-relatos (Mela e Aaron 1997), especialmente quanto ao consumo de refeições intermediárias (Gatemby 1997; Bellisle et al 1997; Chiva 1997) e nos relatos de pessoas obesas (Racette et al 1995; Lichtman et al 1992; Voss et al 1998; Lissner e Heitmann 1999). Talvez essas questões sejam as respostas para a pouca literatura em humanos disponível, apesar do interesse de muitos pesquisadores. Poucos estudos foram descritos sobre a frequência de ingestão alimentar populacional. Baseado em recordatórios de 24 horas, a Fundação Britânica de Nutrição (BNF 1984) relatou ingestão alimentar média diária de 6,5 vezes, sendo 1,68 refeições e 4,76 lanches em 1000 adultos do Reino Unido. Nos Estados Unidos, a frequência alimentar observada no final da década passada foi de 3,47 vezes ao dia (*desvio-padrão*=0,90) (Longnecker et al 1997).

O estudo de Summerbell et al (1995) comparou diferentes faixas etárias quanto às frequências de ingestão alimentar, definindo-as em 6 ocasiões diárias (café da manhã, lanche da manhã, almoço, lanche da tarde, jantar e lanche da noite). Um período de alimentação foi definido como o consumo de qualquer alimento ou bebida que fornecesse energia. O grupo de meia-idade (39-59 anos) recebeu 25,8% (homens) e 21,4% (mulheres) do total de calorias ingeridas na forma de lanches, enquanto o grupo idoso (65 a 91 anos) recebeu apenas 16,6% (homens) e 17,9% (mulheres). No entanto, esse estudo definiu como limite máximo 6 refeições por dia, o que impede uma análise real do padrão de ingestão.

Gatemby (1997) descreveu também que, de forma geral, mulheres consomem mais chocolates, biscoitos, bolachas e tortas em lanches, enquanto homens consomem mais frutas, refrigerantes e sanduíches nessas ocasiões, o que reflete maior ingestão lipídica nas mulheres. Também já foi

demonstrado que o consumo alimentar no sexo feminino está associado às alterações hormonais do ciclo menstrual (Dalvit, 1990). Em ambos os sexos, a frequência de ingestão alimentar apresenta-se positivamente correlacionada ao gasto total energético (Gatemby, 1997). A análise da composição nutricional de lanches e refeições não apresentou diferenças no total de gorduras (Gatemby 1997; Summerbel 1995), apesar de os lanches serem mais ricos em gordura saturada (Gatemby 1997). No entanto, como é comum sub-relatos da ingestão de lanches, a interpretação desses dados fica comprometida.

Sabe-se que o comportamento alimentar depende de muitos fatores sociais, psicológicos e culturais. Chiva (1997) resume que a frequência de ingestão alimentar depende principalmente da disponibilidade de alimentos e dos modelos culturais de referência. O impacto social sobre a ingestão alimentar já foi ressaltado na literatura, demonstrando que a sensibilidade individual à presença de outros indivíduos durante o ato de alimentar-se implica diferentes comportamentos (De Castro 1997).

Especialmente quando se consideram os ritmos diários, podem ser notadas grandes diferenças no consumo alimentar durante a semana em indivíduos de todas as idades (Post et al 1987; Lachapelle et al 1989; Winkler et al 1991; De Castro 1991; Maisey et al 1995). Aos finais de semana, as pessoas tendem a apresentar hiperfagia, com maior ingestão energética, de macronutrientes e álcool (Winkler et al 1991), com maior volume e duração das refeições (De Castro 1991). Essas alterações comportamentais também são vistas em crianças (Lachapelle et al 1989) e adolescentes (Post et al 1987), que consomem menos alimentos saudáveis aos finais de semana.

Um dos aspectos que mais recebeu atenção nessa área de estudo foi o metabólico, com as conseqüentes alterações induzidas por oscilações na ingestão alimentar (Jenkins 1997; Mann 1997). Dois padrões foram identificados, o denominado em inglês *snacking* (cuja tradução literal é o ato de comer mordiscando, beliscando, representando um hábito alimentar fracionado, com alta frequência de ingestão e com volume pequeno de alimentos ingeridos) e o *binge eating* (cuja tradução literária significa um ato de comer insaciável, farto, pouco fracionado e com refeições copiosas ingeridas com gula). Muitos estudos foram realizados sobre estes dois comportamentos alimentares, e a seguir estes dados estão apresentados.

1.1.3.1) *Snacking* x *Binge eating*: aspectos metabólicos

Investigações sobre os efeitos metabólicos desses dois comportamentos extremos foram conduzidas principalmente pelo grupo canadense liderado por David Jenkins. Comparando o consumo de 17 refeições diárias com apenas 3 refeições durante duas semanas, em 7 indivíduos normais que

eram seus próprios controles, os autores notaram que a dieta fracionada reduziu a colesterolemia, as concentrações de LDL (lipoproteína de baixa densidade), de apoproteína B, a insulinemia e a excreção urinária (em 24 horas) de cortisol e peptídeo C, com a manutenção da glicemia (Jenkins et al 1989). Os autores concluíram que as grandes alterações na insulinemia são possivelmente os determinantes das alterações metabólicas em resposta aos dois padrões de ingestão alimentar. Em outro artigo com protocolo experimental idêntico a este, os autores verificaram que a dieta fracionada reduz fatores de risco cardiovascular, tais como a concentração sérica de ácido úrico e pelo aumento na sua excreção urinária, e a síntese hepática de colesterol, também em consequência das alterações na insulinemia (Jenkins et al 1995). Estudos quanto à resposta nas lipoproteínas em consequência da variação na frequência de ingestão apontaram redução no LDL com alimentação fracionada (9 refeições por dia) em comparação a apenas 3 refeições diárias em indivíduos normais que alteraram a frequência de ingestão de suas dietas usuais por 2 semanas (Arnold et al 1993). No entanto, em indivíduos hipercolesterolêmicos, consumindo suas dietas usuais por 4 semanas, divididas em 3 ou 9 refeições por dia, não houve alterações no perfil plasmático de lipídios (Arnold et al 1994).

As baixas variações insulinêmicas parecem ser a proteção contra as alterações metabólicas lipídicas e de carboidratos numa dieta fracionada. Não só os trabalhos de Jenkins et al (1989 e 1995) encontraram esse resultado: Wolever (1990) também observou que concentrações baixas de insulina em resposta a uma alimentação contínua estão relacionadas às reduções nas concentrações de colesterol plasmático.

Tendo em vista que o controle da glicemia com reduzidas concentrações plasmáticas de insulina representa um grande benefício para pacientes diabéticos tipo 2 e intolerantes à glicose, investigações sobre o fracionamento da dieta nesses indivíduos também receberam atenção. Esse mesmo grupo citado anteriormente (Jenkins et al 1992) estudou pacientes diabéticos tipo 2, recebendo em um dia uma dieta fracionada (13 refeições) e no dia seguinte essa mesma dieta reunida em apenas 3 refeições. Durante 9,5 horas de observação, os autores verificaram que a alimentação fracionada reduziu a glicemia, a insulinemia, a trigliceridemia e as concentrações urinárias de peptídeo C, apesar de as concentrações de ácidos graxos livres, 3-hidroxibutirato e dos aminoácidos de cadeia ramificada terem permanecido semelhantes. Vale ressaltar que esses efeitos foram observados em apenas 1 dia de alteração na ingestão alimentar. O estudo de Bertelsen et al (1993), também com pacientes diabéticos, obteve resultados semelhantes: 12 diabéticos tipo 2 receberam dietas isocalóricas em 2 (duas) grandes refeições em um dia ou em 6 (seis) pequenas refeições em outro dia, com distância de 1 a 3 semanas entre cada estudo. Foi realizado teste intravenoso de tolerância à glicose. A glicemia manteve-se constante após a dieta fracionada, e os picos na insulinemia, observados na dieta copiosa, não ocorreram na dieta com 6 refeições. As concentrações de ácidos graxos livres também foram inferiores na alimentação fracionada. Uma das hipóteses para este fenômeno seria a das alterações no

metabolismo de carboidratos e de lipídios, já que a alimentação fracionada pode resultar uma supressão prolongada dos efeitos inibitórios dos ácidos graxos livres na captação de glicose (Randle et al 1963).

Percebe-se um potente efeito benéfico devido ao fracionamento da dieta e, como consequência, os guias alimentares para diabéticos incluem essa recomendação (Franz et al 1994). No entanto, não foram conduzidos estudos em longo prazo e os mecanismos e as adaptações que ocorrem em resposta a esse padrão de ingestão ainda não foram descritos, o que requer estudos futuros (Jenkins 1997). Dúvidas também permanecem quanto ao número de refeições diárias necessárias para tais benefícios.

Apesar de indicativos epidemiológicos sugerirem relação inversa entre adiposidade (Metzner 1977) ou excesso de peso (Fabry et al 1964) e a frequência de ingestão alimentar, não foram observadas alterações na composição corporal em indivíduos normais que alteraram seu hábito de 3 para 6 refeições diárias, mantendo-se a mesma ingestão energética em 6 semanas (Cohn e Allweiss 1963). Por outro lado, Knittle (1966) observou indivíduos hospitalizados recebendo quantidades isocalóricas de alimentos por uma ou seis vezes ao dia, durante 4 a 6 semanas. A lipogênese em 24 horas foi maior nos indivíduos que receberam a dieta apenas uma vez ao dia (*gorging*), sendo que a trigliceridemia neste grupo foi menor.

A recente revisão de Bellisle et al (1997) sobre a relação entre o balanço energético e a frequência de ingestão alimentar em humanos revela que as evidências epidemiológicas são fracas quanto ao ganho de peso e gasto energético, e conclui que qualquer influência da frequência de alimentação sobre a regulação do peso é mediada por efeitos sobre a ingestão alimentar da equação de balanço energético. De forma semelhante, Venne et al (1993) estudaram 10 homens consumindo 2 refeições diárias por 1 semana ou 7 refeições por dia em outra semana, e não observaram alterações na termogênese de indução dietética ou na taxa metabólica diária média através de espirometria nas últimas 36 horas de cada intervenção dietética semanal.

De forma geral, os estudos ainda não atingiram uma resposta definitiva para a questão da regulação energética. Um padrão de ingestão *gorging* no homem demonstrou aumentar a lipogênese (Fabry et al 1964; Bray 1972; Knittle, 1966) e o peso corporal (Dalosso et al 1982; Bray 1972), apesar de não influenciar os gastos energéticos (Bellisle et al 1997; Venne et al 1993). Por outro lado, a termogênese de indução dietética parece ser maior em resposta a uma única refeição do que a seis refeições ao longo de um mesmo período, com os devidos controles quantitativos e qualitativos da dieta (Tai et al 1991). Segundo Summerbell et al (1995) e Bellisle et al (1997) o comportamento alimentar não pode ser considerado um dos maiores determinantes da obesidade. Por outro lado, Knittle (1966) apresenta o ser humano basicamente como um animal do tipo *gorging*, justificando a obesidade, a hipercolesterolemia e a aterosclerose em função deste comportamento.

A distribuição temporal da ingestão alimentar já demonstrou influenciar o metabolismo em várias espécies. O modelo experimental com ratos foi largamente utilizado para o estudo dos efeitos

metabólicos dos comportamentos alimentares. Sabe-se que os ratos são biologicamente animais do tipo *nibbling*, mas se adaptam rapidamente ao padrão copioso (*gorging*) (Fabry e Tepperman 1970; Cohn e Joseph, 1960a e b). Miller et al (1994) verificaram que a ingestão média diária de ratos foi 12,3 vezes, monitorando o comportamento alimentar por 14 dias.

Quando o rato é forçado a se tornar um animal *gorging*, as alterações na ingestão e absorção de alimento podem produzir alterações em várias atividades enzimáticas e na composição corporal: ao ingerir sua porção diária de ração em uma única refeição (*gorging*) em vez de várias pequenas refeições (*nibbling*), ele se beneficia com a regularização do seu metabolismo de gorduras a ponto de a máxima quantidade de alimento poder ser estocada enquanto disponível, para ser utilizada como fonte energética nos períodos em que o alimento não está disponível.

Ratos com ingestão pareada recebendo alimentos por um tubo estomacal duas vezes ao dia ganharam praticamente o mesmo peso que animais com livre acesso ao alimento. Contudo, os animais com alimentação forçada possuíram um nítido aumento no conteúdo de gordura corporal quando comparados aos animais *ad libitum* (Cohn e Joseph 1960a e b). Estes resultados ainda são contraditórios na literatura, e um dos grandes desafios nos experimentos consiste em ajustar os consumos alimentares entre animais *nibbling* e *gorging*, já que a restrição na frequência alimentar geralmente impede os animais *gorging* de ingerir a mesma quantidade de alimento dos animais com ingestão *ad libitum*. Com isso, muitos estudos falharam ao descrever maiores dimensões corporais em animais *gorging* (Romsos e Leveille 1974, Stevenson et al 1964; Curi et al 1986; de Bont et al 1975; Ozelci et al 1978; Belda et al 1987a; Belda et al 1987b; Francischi et al 2001a). No entanto, estudos com frangos (Maiuri et al 1975) ou porcos (Alee et al 1972) revelaram que, mesmo ingerindo menos alimento, os animais *gorging* ganharam peso igual ao observado em animais *nibbling*. Em frangos, esse ganho ponderal chegou a ser maior em animais *gorging* com menor ingestão alimentar (Leveille e Hanson 1965). No estudo de Belda et al (1987b), ratos *gorging* e *nibbling* apresentaram semelhante conteúdo de gorduras nas carcaças, apesar dos ratos com alimentação esporádica apresentarem menor ingestão alimentar e menor peso corporal. De fato, os trabalhos mais antigos sobre frequência de ingestão alimentar em estudos experimentais apontam eficiência do padrão *gorging* no acúmulo de gorduras corporais (Leveille 1972; Fabry e Tepperman 1970; Fabry e Braum, 1967; Cohn e Joseph 1960a; Cohn et al 1962; Leveille e Hanson, 1965; Kerwick e Parwan, 1966; de Bont et al 1976; Fabry et al 1963). Em camundongos, Kerwick e Parwan (1966) notaram que a alimentação de quantidades isocalóricas da mesma dieta através de sondas por duas horas/dia (*gorging*) ou *ad libitum* (*nibbling*) resultou maior índice de ganho de peso e de gordura na carcaça nos animais *gorging*, o que não foi observado por Baker et al (1976).

No entanto, muitos estudos com ingestão pareada entre animais *nibbling* e *gorging* não observaram maior ganho de peso ou acúmulo de gorduras em animais com alimentação esporádica (Pocknee e Heaton 1976; Hill et al 1988; Schoenborne e Canolty 1980; Wood e Reid 1975; Ozelci et al

1977 e 1978). Por outro lado, o estudo de Palmquist et al (1977), que falhou ao observar maior eficiência da alimentação intermitente no acúmulo de gordura corporal, demonstrou que metabolicamente as vias estão adaptadas para este objetivo. As taxas de síntese de ácidos graxos a partir de carbonos da glicose no tecido adiposo epididimal de ratos *gorging* foram quase 100 vezes maior do que nos *nibbling* (Palmquist et al 1977).

Parece que em animais a baixa frequência de ingestão alimentar, mesmo em quantidades isocalóricas, leva ao aumento na eficiência de utilização de energia (Leveille 1972), apesar de não influenciar as taxas metabólicas basais. Por outro lado, a reduzida frequência de ingestão parece diminuir a atividade física de ratos (Leveille e O'Hea 1967), mas esta diminuição não parece ser suficiente para compensar completamente a maior eficiência de estoque de energia nestes animais. Há várias adaptações conseqüentes do comportamento alimentar esporádico que podem favorecer a lipogênese em ratos, tais como: hipertrofia intestinal e maior absorção de glicose, aumento na atividade de enzimas responsáveis pela lipogênese no tecido adiposo, aumento na atividade do Ciclo de Krebs, aumento na atividade da via das pentoses, aumento na atividade da via glicolítica e aumento na glicogênese no tecido adiposo e muscular (Leveille 1972). Além disso, a clássica revisão de Fabry e Tepperman (1970) reforça alguns destes efeitos e aponta outros resultantes de alimentações esporádicas em ratos: hipertrofia do trato gastro-intestinal, aumento na atividade de enzimas pancreáticas, aumento na absorção intestinal de glicose, aumento no quociente respiratório, aumento na lipogênese, aumento na síntese de proteínas e de ácidos nucléicos no tecido adiposo, aumento no total de gordura corporal, aumento na insulinemia pós-prandial, aumento na sensibilidade à insulina no tecido adiposo, alterações nos efeitos normais da insulina no músculo (não totalmente descritas), aumento na sensibilidade a agentes diabetogênicos, hipertrofia da vesícula biliar, aumento na síntese hepática de colesterol, e, finalmente, aumento na colesterolemia.

Um dos maiores estudiosos do tema, Leveille (1972) fez uma importante observação a respeito da possível hiperlipogênese conseqüente da alimentação esporádica em ratos: a maquinaria enzimática do tecido adiposo de animais do tipo *gorging* adapta-se para facilitar a conversão de glicose em ácidos graxos, a glicerol-2-fosfato e a glicogênio, além de prover maior capacidade de geração de NADPH para atender à demanda da biossíntese de ácidos graxos, mas afirmar categoricamente que há maior taxa de síntese de gorduras em conseqüência da baixa frequência de ingestão alimentar ainda é arriscado. Por outro lado, potencialmente, estes animais possuem as adaptações enzimáticas que favorecem esta resposta metabólica (Leveille 1972). Vários estudos com ratos em diferentes tecidos (tecido adiposo, fígado e músculo esquelético) procuraram identificar vias metabólicas estimuladas ou inibidas em resposta ao consumo *gorging* crônico. Os esquemas a seguir representam tais adaptações enzimáticas nas vias metabólicas.

Tecido Adiposo:

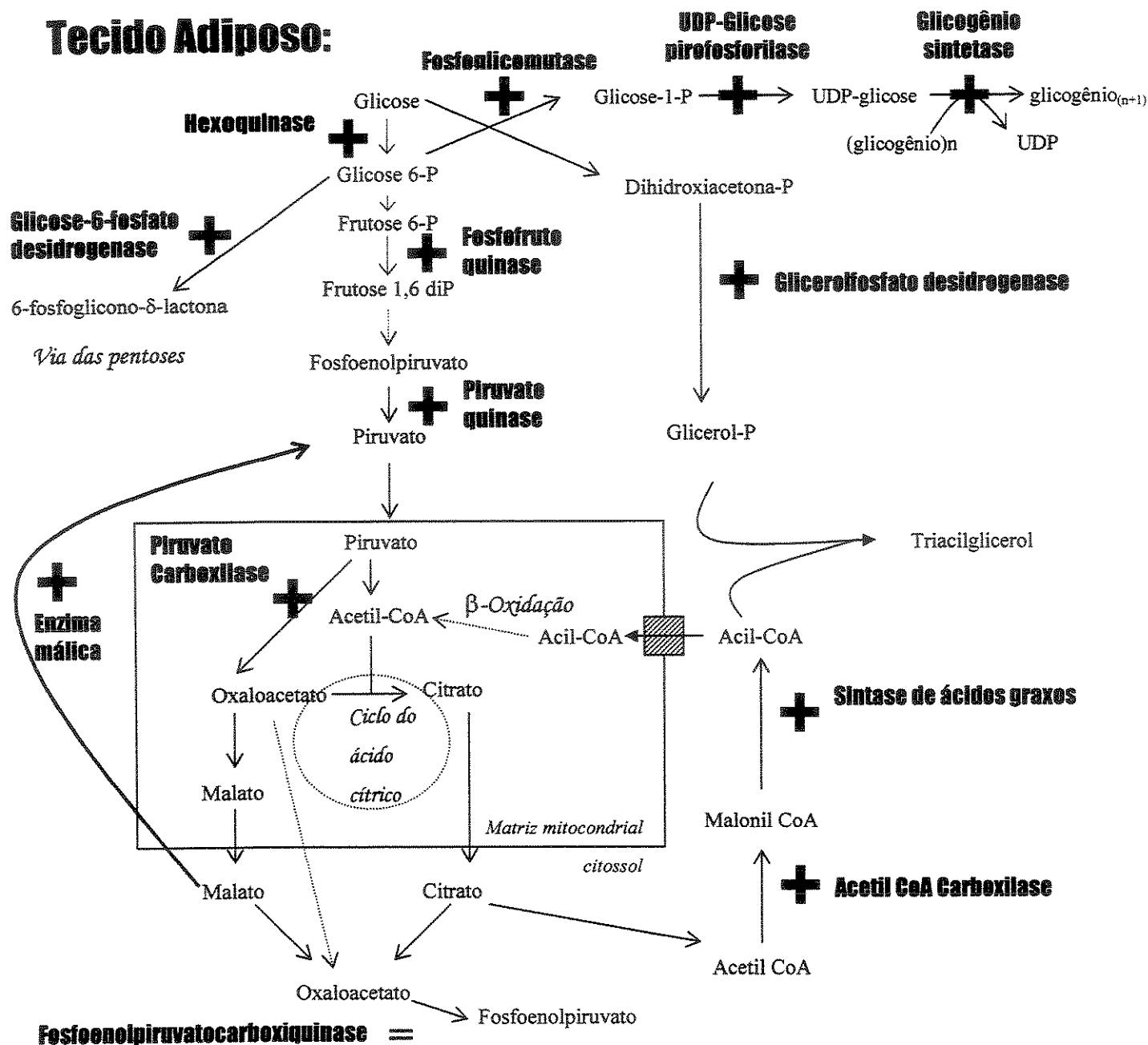


Figura 2: Vias metabólicas e enzimas cujas atividades foram estudadas no tecido adiposo de animais adaptados ao consumo alimentar intermitente (*gorging*).

Obs 1: O símbolo = indica que a enzima estudada teve sua atividade inalterada e símbolo + indica que a enzima teve sua atividade aumentada nos animais *gorging* quando comparados aos animais controle.

Obs. 2: Segue o EC e os estudos que avaliaram as enzimas estudadas: **Acetil-CoA carboxilase** (EC. 6.4.1.2) (Chakrabarty e Leveille, 1968; Leveille, 1972; de Bont et al.1975); **Sintase de ácidos graxos** (EC. 2.3.1.85) (Romsos e Leveille, 1972; Leveille, 1972; de Bont et al.1975); **Glicerofosfato desidrogenase** (EC. 1.1.1.8) (Chakrabarty e Leveille, 1968); **Hexoquinase** (EC. 2.7.1.1) (Chakrabarty e Leveille, 1968; Leveille, 1972); **Piruvato quinase** (EC. 2.7.1.40) (Chakrabarty e Leveille, 1968; Leveille, 1972); **Fosfofrutoquinase** (EC. 2.7.1.90) (Leveille, 1972); **Piruvato carboxilase** (EC. 6.4.1.1) (Chakrabarty e Leveille, 1968; Leveille, 1972); **Enzima málica** (EC. 1.1.1.40) (Leveille, 1972; Romsos e Leveille, 1972; de Bont et al.1975); **Glicose-6-fosfato desidrogenase** (EC. 1.1.1.49) (Hollifield e Parson, 1962) **Fosfoglicomutase** (EC. 5.4.2.2) (Wiley e Leveille, 1970); **UDP-G pirofosforilase** (EC. 2.7.7.9) (Wiley e Leveille, 1970); **Glicogênio sintetase** (EC. 2.4.1.11) (Wiley e Leveille, 1970); **Fosfoenolpiruvato carboxiquinase** (EC. 4.1.1.32) (Chakrabarty e Leveille, 1968);

Fígado:

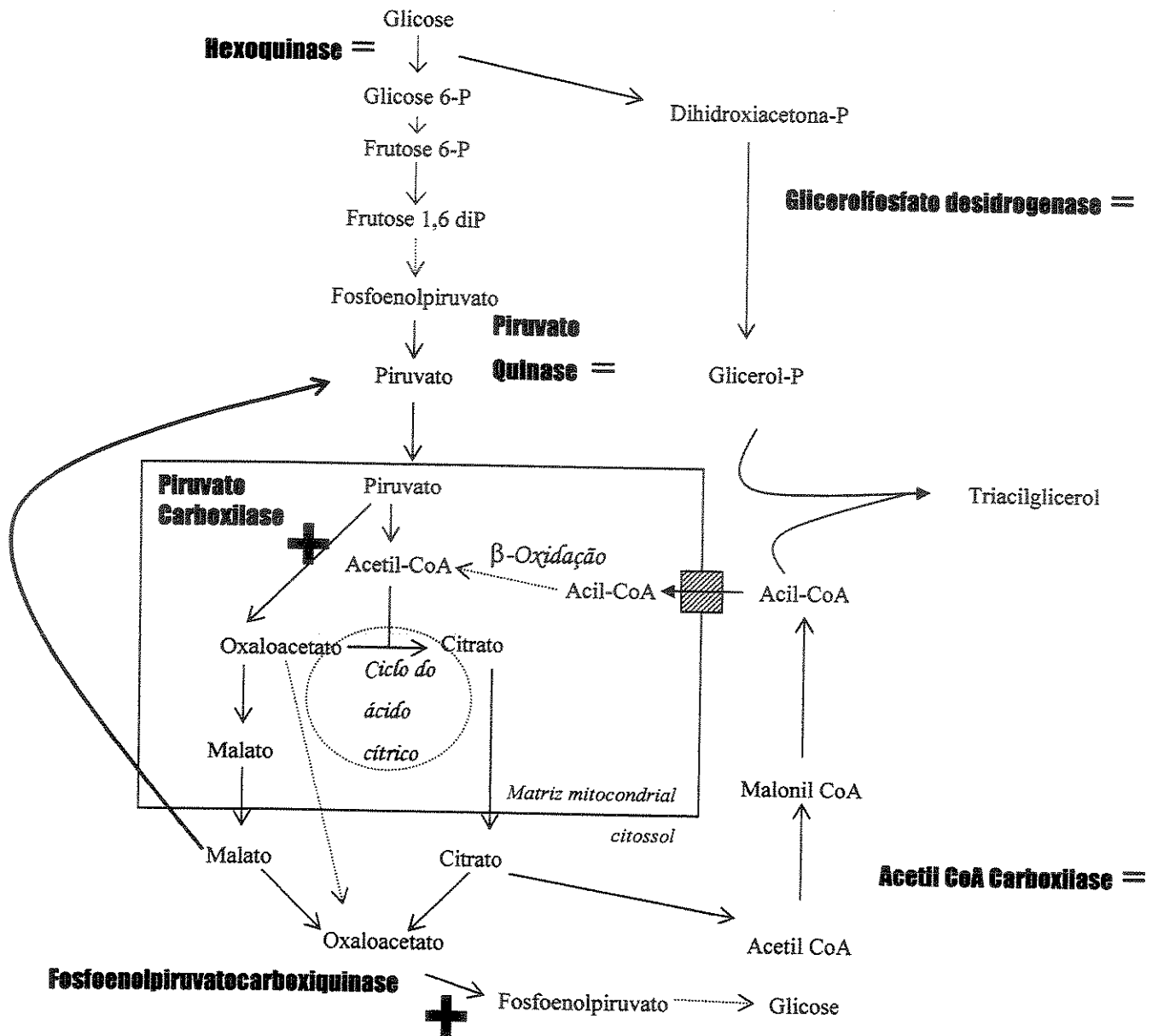


Figura 3: Vias metabólicas e enzimas cujas atividades foram estudadas no fígado de animais adaptados ao consumo alimentar intermitente (*gorging*).

Obs 1: O símbolo = indica que a enzima estudada teve sua atividade inalterada e símbolo + indica que a enzima teve sua atividade aumentada nos animais *gorging* quando comparados aos animais controle.

Obs. 2: Segue o EC e os estudos que avaliaram as enzimas estudadas: **Piruvato carboxilase** (EC. 6.4.1.1) (Chakrabarty e Leveille, 1968); **Fosfoenolpiruvato carboxiquinase** (EC. 4.1.1.32) (Chakrabarty e Leveille, 1968); **Glicoquinase** (EC. 2.7.1.2) e **Hexoquinase** (EC. 2.7.1.1) (Chakrabarty e Leveille, 1968); **Piruvato quinase** (EC. 2.7.1.40) (Chakrabarty e Leveille, 1968); **Glicerofosfato desidrogenase** (EC. 1.1.1.8) (Chakrabarty e Leveille, 1968); **Acetil-CoA carboxilase** (EC. 6.4.1.2) (Chakrabarty e Leveille, 1968);

Músculo:

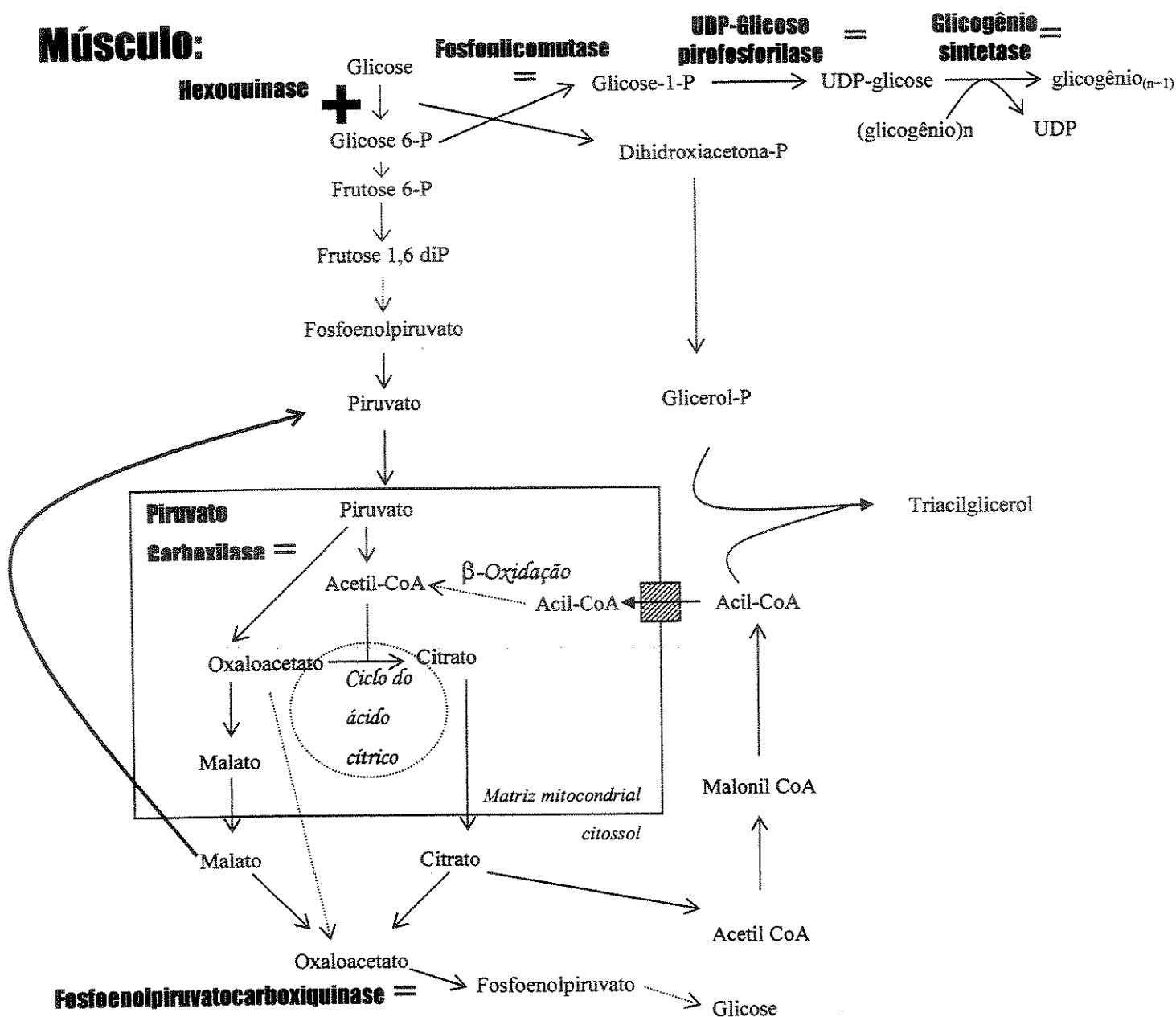


Figura 4: Vias metabólicas e enzimas cujas atividades foram estudadas no músculo de animais adaptados ao consumo alimentar intermitente (*gorging*).

Obs 1: O símbolo = indica que a enzima estudada teve sua atividade inalterada e símbolo + indica que a enzima teve sua atividade aumentada nos animais *gorging* quando comparados aos animais controle.

Obs. 2: Segue o EC e os estudos que avaliaram as enzimas estudadas: **Hexoquinase** (EC. 2.7.1.1) (Chakrabarty e Leveille, 1968; Wiley e Leveille, 1970); **Piruvato quinase** (EC. 2.7.1.40) (Chakrabarty e Leveille, 1968); **Fosfoenolpiruvato carboxiquinase** (EC. 4.1.1.32) (Chakrabarty e Leveille, 1968); **Fosfoglicomutase** (EC. 5.4.2.2) (Wiley e Leveille, 1970); **UDP-G pirofosforilase** (EC. 2.7.7.9) (Wiley e Leveille, 1970); **Glicogênio sintetase** (EC. 2.4.1.11) (Wiley e Leveille, 1970);

O tecido adiposo é o que apresenta a maior adaptabilidade bioquímica ao padrão alimentar intermitente. As enzimas responsáveis pela lipogênese neste tecido estão aumentadas, assim como a via glicolítica (Chakrabarty e Leveille, 1968; Leveille, 1972) e a via das pentoses (Leveille, 1972), provendo substratos para a síntese de lipídios. No fígado, as enzimas responsáveis pela lipogênese estão inalteradas, provavelmente porque este órgão está anabolicamente ativo para a síntese de glicose, já que as enzimas responsáveis pela neoglicogênese estão elevadas. No músculo, há maior captação de glicose. Cuthbertson (1967) ressalta ainda que morfologicamente o tecido adiposo transforma-se em resposta à alimentação intermitente, e que o aumento da lipogênese é o resultado não apenas do aumento de tamanho dos adipócitos (hipertrofia), e também da hiperplasia deste, demonstrada pelo aumento no conteúdo de DNA deste tecido.

Estes possíveis efeitos bioquímicos não podem ser dissociados das alterações nas taxas de secreção e de sensibilidade à insulina, e demais hormônios participantes da regulação metabólica. Provavelmente em animais *gorging* há redução na secreção de hormônio tireoidiano, diminuição na formação e/ou liberação de TSH (hormônio estimulador da tireóide) e adrenocorticotrófico (Conh e Joseph 1960a e 1960b).

O dado sobre melhora na sensibilidade à insulina em animais com alimentação esporádica (Romsos e Leveille 1974; Leveille e Chakrabarty 1968; Fabry e Tepperman 1970) é bastante curioso e contradiz as observações feitas em humanos de prejuízo na tolerância à glicose em consequência deste mesmo comportamento alimentar (Jenkins 1997). Leveille e Chakrabarty (1968) estudaram a absorção e o metabolismo da glicose em animais divididos em grupos *nibbling* (com acesso às suas dietas *ad libitum*) e *gorging* (2 horas de alimentação por dia, 22 horas de jejum), por no mínimo 3 semanas. Após o teste de tolerância oral à glicose, os autores observaram que os animais *nibbling* apresentaram maiores glicemias durante todo o teste, menor captação de glicose sistemicamente e menor conversão de glicose em glicogênio por unidade de tempo. Além disso, os animais *nibbling* também apresentaram maior peso corporal, menor peso intestinal e, conseqüentemente, menor absorção de glicose por peso corporal (uma vez que a área intestinal foi reduzida). Pôde-se concluir neste estudo que o comportamento *gorging* em animais garantiu melhor tolerância à glicose e maior eficiência no metabolismo de carboidratos.

Como já afirmado, os dados sobre a tolerância à glicose em ratos alimentados de forma esporádica opõem-se aos observados em seres humanos. Na tentativa de justificar essas diferenças em função da composição da dieta ingerida, em especial quanto ao teor lipídico, Romsos e Leveille (1974) realizaram um estudo pioneiro com ratos alimentados *ad libitum* (*nibbling*) ou por apenas 2 horas (*gorging*) com 4 tipos diferentes de dietas durante 34 dias: 1) hiperglicídica, cuja fonte de carboidratos era a glicose; 2) hiperglicídica, cuja fonte carboidratos era a sacarose (ambas com apenas 12% do valor calórico total de lipídios); 3) rica em lipídios com presença de glicose; ou 4) rica em lipídios com

presença de sacarose (ambas com 50% do valor calórico proveniente de lipídios). A alimentação do tipo *gorging* induziu menor peso corporal (uma vez que os animais *gorging* consumiam menos ração por dia), porém os grupos com dieta hiperlipídica apresentaram maior peso corporal, independentemente da frequência de ingestão alimentar. Além disso, os animais do tipo *gorging* apresentaram maior capacidade de conversão de glicose em ácidos graxos, maior atividade da enzima málica (EC. 1.1.1.40) e do complexo multienzimático da ácido graxo sintase (EC. 2.3.1.85), como já observado anteriormente. Os dados da tolerância à glicose mantiveram-se semelhantes aos observados por outros autores: animais do tipo *gorging* apresentaram melhor tolerância, apesar dos animais que ingeriram as dietas hiperlipídicas possuírem piores curvas glicêmicas durante o teste de tolerância oral à glicose. Além disso, nas dietas hipolipídicas, a presença de sacarose prejudicou a tolerância à glicose. Curiosamente, os autores também verificaram as glicemias basais dos animais em função do número de horas em jejum: após 12 horas de jejum, as glicemias dos animais *gorging* eram idênticas às dos *nibbling*; após 23 horas de jejum, os animais *gorging* apresentaram maiores glicemias basais. No entanto, os autores (Romsos e Leveille 1974) verificaram que os animais do tipo *gorging* consomem cerca de 20% menos ração do que os do tipo *nibbling* (mas não identificaram em quais rações essa diferença foi observada ou se ocorrem semelhantemente para os quatro tipos de dieta). Os autores realizaram então um grupo com ingestão pareada, de forma que os animais *nibbling* tiveram acesso apenas à mesma quantidade de alimento ingerida pelos animais *gorging* (apenas para a dieta número 1, rica em carboidratos com glicose). Neste caso, a diferença de peso corporal entre os animais *nibbling* e *gorging* desapareceu. No entanto, os animais *gorging* continuaram apresentando melhor tolerância à glicose.

As possíveis explicações dos autores para esses dados recaem novamente sobre a insulinemia: a maior concentração de insulina nos animais do tipo *gorging* e a maior sensibilidade do tecido adiposo a esta, mesmo em função da maior absorção intestinal de glicose, garantem melhor tolerância à glicose e maior susceptibilidade à lipogênese nestes animais (Romson e Leveille 1974). No entanto, as diferenças na composição da dieta não justificaram as discrepâncias observadas nos resultados com seres humanos e com ratos e a pergunta inicial dos autores permanece sem resposta ao final do estudo. Uma hipótese que pode ser considerada é a de que não houve tempo para o desenvolvimento da síndrome metabólica nestes animais, uma vez que há grandes chances de que estas altas concentrações insulinêmicas levem cronicamente à falência das células-beta e à resistência à insulina. Durante os estágios de desenvolvimento do diabetes mellitus ou mesmo da intolerância à glicose, parece que estes animais *gorging* ainda estão no estágio inicial e um estudo mais prolongado pode observar o início da intolerância à glicose, a qual é observada em humanos com baixa frequência de ingestão alimentar. De fato, o estudo de Curi e Hell (1986) acompanhando ratos *gorging* e *nibbling* por 4 ou 20 semanas revelou que a diferença na glicemia entre os grupos ainda não é significativa após 4 semanas de estudo,

sendo que ao final das 20 semanas o grupo *gorging* apresenta glicemia 26,7% maior. Um estudo muito interessante e original foi realizado por Santos et al (1989) sobre as respostas do pâncreas endócrino em função de diferentes comportamentos alimentares. Ratos foram divididos em 3 grupos: *nibbling* (com acesso às suas dietas *ad libitum*), *gorging* crônico (permanecendo em jejum 22h/dia e alimentados 2h/dia, durante 4 semanas) e *gorging* agudo (em jejum apenas nas 22 horas que antecederam os experimentos) e foram avaliadas as secreções insulínicas, fluxos de cálcio marcado e taxas de oxidação de glicose marcada com carbono 14 em ilhotas de Langerhans. Os resultados foram bastante interessantes: a secreção de insulina, quando expostos à mesma sobrecarga de glicose, foi menor nos animais *gorging*, principalmente nos animais sob *gorging* crônico; foi observada menor descarboxilação de glicose nos animais *gorging*, indicando um prejuízo no metabolismo de glicose em função do jejum. Tendo em vista que a secreção de insulina pelo secretagogo leucina também esteve prejudicada nos animais *gorging*, os autores concluíram que as células-beta também estavam com desvios no metabolismo oxidativo, com prejuízos intracelular e bioquímico. Como era de se esperar frente a estes resultados, o efluxo de cálcio também esteve diminuído nos animais do tipo *gorging*, concluindo que a baixa frequência de ingestão alimentar prejudica a função normal das células-beta. Como abordado nos tópicos anteriores, esse prejuízo é um importantíssimo mecanismo fisiopatológico no desenvolvimento do diabetes mellitus tipo 2.

Apesar destes indícios, a literatura ainda não obteve uma resposta definitiva para a questão da relação entre frequência alimentar e saúde. Este assunto foi muito estudado ao longo das décadas de 60 e 70, mas atualmente não vem recebendo muita atenção. Curiosamente, este comportamento alimentar pode ser de suma importância na prevenção e no tratamento de algumas doenças de altíssimas prevalências nas sociedades modernas. No final de sua revisão, Fabry e Tepperman (1970) afirmam: "Na base do conhecimento atual, a alimentação esporádica não aparenta ser patogênica por si só. Além disso, um padrão de ingestão de 2 refeições por dia é comum em muitas áreas em desenvolvimento como África, Ásia e América Latina - onde, é claro, a ingestão calórica é muito baixa e a atividade física é alta - locais onde nem a obesidade nem a doença isquêmica cardíaca se tornaram um problema social". Como apresentado, as estatísticas atuais nessas mesmas áreas em desenvolvimento, incluindo o Brasil, revelam um quadro completamente oposto ao descrito pelos autores de 1970!

A importância da frequência alimentar ainda requer estudos futuros. Apesar dos indicativos listados sobre os benefícios da ingestão fracionada, estudos em longo prazo não foram conduzidos. O maior intervalo de tempo estudado foi de 4 semanas, sendo que há estudos de apenas 1 dia. Para se atingir essas respostas, os estudos devem ser bem controlados, admitindo-se como variável apenas as alterações nas taxas de distribuição de nutrientes no organismo (Jenkins 1997). Nos estudos experimentais, animais *gorging* parecem regular seu metabolismo de gorduras a ponto de a máxima quantidade de alimento ser estocada enquanto disponível, para ser utilizada como fonte energética nos

períodos em que não está disponível. Ratos consumindo dietas pobres em gordura apresentaram aumento na atividade de várias enzimas do tecido adiposo, as quais favorecem a conversão de carboidratos em gorduras (Hollifield e Parson 1962; Chakrabarty e Leveille 1968) e, nos casos de ingestão energética suficiente, o resultado foi aumento na gordura corporal (Cohn et al 1955). Ratos consumindo dietas hiperlipídicas, no entanto, não utilizam carboidrato em excesso como fonte de gordura corporal. Ao invés, incorporam a gordura dietética diretamente nos depósitos de gordura, o que é um processo energético mais eficiente. Ainda não foi estabelecido se esta incorporação torna-se mais eficiente quando a dieta hiperlipídica é consumida de uma só vez, possivelmente como um resultado da adaptação enzimática envolvida na conversão de gordura dietética em tecido adiposo, e tampouco se a adiposidade maior é aquela obtida em ratos *gorging* ou em *nibbling*. Além disso, a frequência alimentar reduzida, aliada a dietas com composições inadequadas, como as hiperlipídicas, possuem importantes repercussões sobre desvios metabólicos e refletem um hábito comum ao estilo de vida moderno. Pesquisas sobre a relação entre intervenções dietéticas e a síndrome metabólica são cada vez mais importantes e vem sendo intensivamente incentivadas (Ravussin et al 2002). Esse comportamento alimentar pode ser uma das causas de várias doenças já definidas como de grande relevância para a saúde pública, e esse hábito pode ser perfeitamente combatido, considerando-se a importância da definição do elo entre os desvios metabólicos e esse comportamento.

2) Objetivos

Os objetivos do presente trabalho foram:

- Comparar a composição corporal e o desenvolvimento de obesidade em ratas submetidas cronicamente (8 semanas) a dietas hiperlipídica ou controle associadas ou não ao comportamento alimentar com frequência reduzida de ingestão alimentar (do tipo *gorging*);
- Verificar e dimensionar o desenvolvimento de intolerância à glicose e dislipidemia em ratas submetidas cronicamente (8 semanas) a dietas hiperlipídica ou controle associadas ou não ao comportamento alimentar com frequência reduzida de ingestão alimentar (do tipo *gorging*);

3) Materiais e Métodos

3.1) Animais

A amostra dos experimentos foi composta de 48 ratas fêmeas *Wistar*, adquiridas do biotério do Instituto de Química da Universidade de São Paulo. Os animais foram mantidos com ciclo claro-escuro invertido, com período claro das 19h às 07h, com livre acesso à água e ração comercial (*Nuvilab CR1*, *Nuvital Nutrientes Ltda*, Colombo/PR), no biotério do Laboratório de Nutrição e Metabolismo Aplicado à Atividade Motora da Escola de Educação Física e Esporte da Universidade de São Paulo, local onde foram realizadas as análises descritas a seguir. Foram utilizadas ratas fêmeas pela maior eficiência lipogênica em relação aos ratos machos (Sclafani, 1992), sabendo que as variações no ciclo estral seriam minimizadas pelo longo tempo de intervenção (8 semanas). Os experimentos iniciaram quando os animais atingiram peso de aproximadamente 200g.

3.2) Protocolo Experimental

Os animais foram mantidos nas mesmas condições citadas anteriormente, porém em gaiolas individuais e divididos aleatoriamente em 4 grupos experimentais, que se diferenciaram quanto à composição da dieta e à frequência de ingestão alimentar, conforme descrito no Tabela 1. Cada experimento teve duração de 8 semanas, sendo realizados 2 experimentos cada um com 24 animais, totalizando 12 em cada grupo.

Tabela 1: Composição da dieta e sua frequência de ingestão segundo grupo experimental

Grupos	Composição da dieta	Frequência de ingestão alimentar
CONTROLE 24 HORAS	Controle (ração comercial)	<i>Ad libitum (nibbling)</i> - (CN)
HIPERLIPÍDICA 24 HORAS	Hiperlipídica	<i>Ad libitum (nibbling)</i> - (HLN)
CONTROLE 2 HORAS	Controle (ração comercial)	1 vez/dia (<i>gorging</i>) - (CG)
HIPERLIPÍDICA 2 HORAS	Hiperlipídica	1 vez/dia (<i>gorging</i>) - (HLG)

Obs: estamos mantendo os termos nibbling e gorging por não encontrarmos sinônimos em português que caracterizassem esses comportamentos.

A ração consumida pelos grupos controle *ad libitum* e 2 horas (CN e CG) foi a comercial, semelhante à consumida na fase de crescimento dos animais (Nuvilab CRI, Nuvital Nutrientes Ltda, Colombo/PR). A ração hiperlipídica consumida pelos grupos hiperlipídica *ad libitum* e 2 horas (HLN e HLG) foi formulada na Farmacotécnica Industrial, junto à Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. A principal fonte de gorduras utilizada foi a banha de porco, a qual sabidamente possui elevada quantidade de ácidos graxos saturados. A composição desta ração hiperlipídica reproduziu o padrão de alimentação da dieta ocidental já observado anteriormente em nossos estudos com mulheres obesas brasileiras (Francischi et al 1999). A fonte de proteínas utilizada na formulação da ração hiperlipídica foi a caseína e a de carboidratos foi o amido de milho. Para garantir aporte de vitaminas, foram adicionados 10g/kg de suplemento vitamínico para animal de laboratório (Rhoster, Vargem Grande Paulista/SP). Do total de gorduras da dieta hiperlipídica, 41,1% provinha de ácidos graxos saturados, 47,2% de monoinsaturados e 11,7% de poliinsaturados, calculados segundo Anção et al (1999). Tanto a ração comercial como a hiperlipídica tiveram sua composição nutritiva quanto aos teores de macronutrientes determinada no Laboratório de Nutrição da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (Tabela 2). O valor energético foi calculado aplicando os fatores de Atwater (1g de carboidrato ou proteína = 4 kcal; 1 g de lipídio = 9 kcal).

Tabela 2: Composição centesimal das rações controle e hiperlipídica quanto ao teor de macronutrientes e valor energético calculado.

	Ração Controle		Ração Hiperlipídica	
	gramas	% VCT	gramas	% VCT
Carboidratos e fibras	55,16	63,2%	52,58	44,2%
Proteínas	22,72	26,0%	20,37	17,1%
Lipídios	4,17	10,8%	20,48	38,7%
Umidade e cinzas	17,95	-	6,57	-
Energia	349 kcal		476 kcal	

Os animais dos grupos controle 2 horas (CG) e hiperlipídica 2 horas (HLG), ou seja, *gorging*, tiveram acesso às suas respectivas dietas apenas 1 vez ao dia, durante 2 horas seguidas (seguindo o protocolo mais utilizado na literatura), das 12h às 14h (ou seja, na fase escura do ciclo claro-escuro), 5 dias por semana (de segunda a sexta-feira). Por questões operacionais e reproduzindo o comportamento

humano aos finais de semana (Lachapelle et al 1989; Winkler et al 1991; De Castro 1991; Maisey et al 1995), em 2 dias a cada semana (aos finais de semana) esses grupos tiveram acesso às suas respectivas dietas livremente (*ad libitum*). Os animais dos grupos controle 24 horas (CN) e hiperlipídica 24 horas (HLN), ou seja, *nibbling*, tiveram livre acesso às suas dietas durante as 8 semanas do experimento, porém as quantidades ofertadas foram limitadas a fim de realizar a ingestão pareada entre os quatro grupos experimentais. Conforme dados já publicados anteriormente (Francischi et al 2001a) e representados na Figura 5, apenas duas horas diárias de acesso a alimentos foram insuficientes para que os animais *gorging* consumissem a mesma quantidade ingerida pelos animais *nibbling* ao longo de um dia. Mesmo após 8 semanas de adaptação, os animais *gorging* continuaram ingerindo menos alimento que os *nibbling*, tornando então necessário equiparar o consumo alimentar de CN e HLN às ingestões observadas nos grupos CG e HLG.

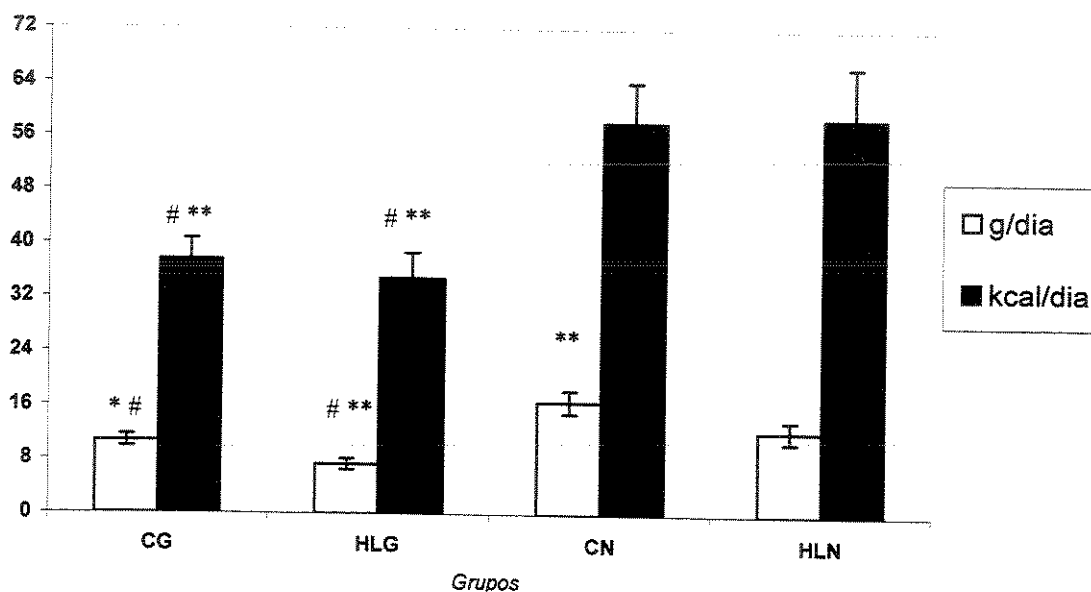


Figura 5: Consumo alimentar expresso em g/dia e em kcal/dia ao longo de 8 semanas em cada grupo experimental (média $\pm$ desvio-padrão).

CG: controle “gorging” (n=5); HLG: hiperlipídica “gorging” (n=5); CN: controle “nibbling” (n=5); HLN: hiperlipídica “nibbling” (n=5);
 * = $P < 0,01$ em relação ao grupo HLG para a mesma variável
 # : $P < 0,01$ em relação ao grupo CN para a mesma variável
 ** : $P < 0,01$ em relação ao grupo HLN para a mesma variável

Assim, os animais *nibbling* controle (CN) e hiperlipídica (HLN) com ingestão pareada receberam a média acrescida de um desvio padrão do consumo alimentar de CG (11,6g de ração comercial/dia) e HLG (8,2g de ração hiperlipídica/dia), respectivamente. A ingestão energética média de todos os animais foi de 40 kcal/dia. Estas quantidades foram divididas em 2 porções servidas

diariamente às 10h e às 16h de segunda a sexta-feira para os animais *nibbling*. Para os finais de semana estas quantidades foram multiplicadas para atenderem a estes dias e foram servidas na sexta-feira às 20h. Os restos de ração verificados na gaiola após a oferta dos animais *nibbling* foram mantidos à disposição *ad libitum*. Uma vez que entre os grupos ração *gorging* e hiperlipídica *gorging* e entre os grupos ração *nibbling* e hiperlipídica *nibbling* os consumos energéticos foram semelhantes, não houve a necessidade do ajuste no consumo alimentar para o tipo de ração, apenas para a frequência de ingestão (Francischi et al 2001a).

Decorridas as 8 semanas de intervenção dietética, os animais foram sacrificados após 4 horas de privação alimentar, com apenas água à disposição. Os animais dos grupos alimentados apenas 1 vez ao dia foram sacrificados igualmente após 4 horas de privação alimentar, sendo que no dia anterior ao sacrifício os animais tiveram consumo alimentar *ad libitum*. Essa metodologia é justificada pelo objetivo de avaliar o efeito crônico do comportamento alimentar, e não o agudo. No primeiro experimento, o sacrifício foi por concussão cerebral e alguns órgãos e tecidos foram dissecados para posteriores dosagens de composição corporal quanto ao teor de gordura. As carcaças também foram congeladas, conforme descrito a seguir. No segundo experimento, o sacrifício foi por decapitação, sendo o sangue coletado e novamente alguns órgãos e tecidos dissecados e congelados para posteriores dosagens, conforme detalhado a seguir.

3.3) Métodos Analíticos

3.3.1) Composição Corporal e Obesidade

Houve acompanhamento do crescimento ponderal dos animais, pesando-os ao início do experimento (semana 0), após as primeiras 4 semanas (semana 4) e ao final das 8 semanas de intervenção (semana 8).

Para a determinação da composição corporal, os 24 animais utilizados no primeiro experimento foram sacrificados por concussão cerebral e suas carcaças congeladas para posterior homogeneização. Estas foram acrescidas de água destilada (quantidade equivalente ao peso da carcaça) e autoclavadas por 30 minutos. Em seguida, as carcaças foram homogeneizadas com auxílio de liquidificador e uma amostra do homogenato foi utilizada para determinação do conteúdo total de lipídios, conforme descrito a seguir.

Foram dissecados e pesados os tecidos adiposos marrom e branco (retroperitoneal e corpo adiposo) e foram calculados os pesos relativos ao peso corporal final em cada animal. Houve também a dissecação e mensuração do peso relativo do fígado. Todos esses tecidos separados e amostras dos

homogenatos das carcaças sofreram a determinação do conteúdo lipídico total segundo a metodologia descrita por Stansbie et al (1976). As amostras foram incubadas com 3,0 mL de KOH (30%) por 15 minutos a 70°C, sendo acrescidas de 3 mL de álcool etílico absoluto e incubadas por mais 2 horas a esta mesma temperatura. Os ácidos graxos livres da fração lipídica foram extraídos 3 vezes, sendo que inicialmente foram adicionados 2,5 mL de ácido sulfúrico (6N) em gelo e, em seguida, foram adicionados 8 mL de éter de petróleo e colocados em banho à temperatura ambiente com agitação horizontal por 10 minutos, seguidos de centrifugação por 1 minuto a 1500 rpm. O sobrenadante foi separado e reservado com auxílio de pipeta Pasteur. Os mesmos procedimentos foram repetidos com 6,0 mL e 4,0 mL de éter de petróleo. Os sobrenadantes foram então acrescidos de água destilada, separados com bomba à vácuo, e a mistura gordura e éter permaneceu 24 horas em capela à temperatura ambiente para a evaporação do último. O total de gordura (lipídios neutros) então foi determinado em cada tecido por gravimetria em balança com precisão 0,0001g (*Scientech SA 210*) (Stansbie et al 1976). Foram utilizados os homogenatos das carcaças para determinação do conteúdo de proteínas segundo Lowry et al (1951) após a extração das proteínas com clorofórmio, metanol e água 2 vezes, separando-as da fase gordurosa, e finalmente determinando o teor de proteínas, separadas em solução básica de carbonato de sódio, tartarato de sódio e potássio, hidróxido de sódio e sulfato de cobre pentahidratado, quantificadas por espectrofotometria (*Spectrophotometer Dr. Lange CADAS 100*) com auxílio de curva-padrão de albumina.

Do segundo experimento, foram utilizadas as amostras do músculo gastrocnêmio, juntamente com amostras de fígado, que foram dissecadas e congeladas em nitrogênio líquido o mais rápido possível após a decapitação. Ambas as amostras foram utilizadas para a determinação do conteúdo de glicogênio muscular e hepático, cuja extração seguiu o método proposto por Sjörgreen et al (1938). As amostras foram digeridas por 60 minutos em solução KOH (30%) com calor, e a extração foi realizada em 2 vezes, através de precipitação com 70% de etanol sob calor, seguida de centrifugação. A concentração de glicogênio foi então mensurada com antrona por espectrofotometria (*Spectrophotometer Dr. Lange CADAS 100*) contra curva-padrão de glicose, segundo técnica de quantificação de Hassid e Abrahams (1957).

3.3.2) Análises Séricas

Os 24 animais utilizados no segundo experimento foram exanguinados por decapitação ao final das 8 semanas de intervenção, e o sangue coletado foi centrifugado a 2000 rpm e a -10°C para extração do soro e congelado para posteriores dosagens de insulinemia. Nas demais análises (colesterolemia, trigliceridemia, glicemia, albuminemia e HDL séricos – *high density lipoprotein* ou

lipoproteína de alta densidade), o soro não pôde ser congelado, e as determinações foram realizadas no dia do sacrifício. Para a curva glicêmica, a amostra não foi o soro, e sim o sangue, obtido da cauda dos animais vivos.

Foi realizada dosagem da insulinemia no soro obtido, através de radioimunoensaio com kit laboratorial da marca *Amersham Buckinghamshire*, Inglaterra, segundo Reeves (1983). Foram excluídas amostras com presença de hemólise. Houve a dosagem da glicemia neste mesmo soro imediatamente após o sacrifício com auxílio de kit laboratorial *Bioclin (Quibasa Química Básica Ltda.; Belo Horizonte/MG)*, que segue o método da ortotoluidina, na qual o grupamento aldeídico da glicose condensa com a ortotoluidina em ácido acético glacial, formando uma mistura em equilíbrio da glicosilamina e a correspondente base de Schiff, e a intensidade de cor do produto é proporcional à concentração de glicose (Webster et al 1971), medida a 630 nm de absorbância (*Spectrophotometer Dr. Lange CADAS 100*). Foram também calculados os índices glicose/insulina.

Para a estimativa da captação de glicose sistemicamente, foram realizados testes de tolerância oral à glicose (OGTT) em 24 animais ao início do experimento (semana 0) e cinco dias antes do sacrifício (semana 8). Os animais permaneceram 14 horas em privação alimentar, após as quais receberam, via gavagem, solução de glicose a 10%, num total de 2g/kg de peso. A glicemia foi dosada numa gota de sangue coletada da veia caudal, sem anestesia, em glicosímetro da marca *Boehringer Mannheim – RefloLuxS*. As dosagens foram realizadas imediatamente antes da administração da sobrecarga de glicose e aos 30, 60, 90 e 120 minutos seguintes, possibilitando o traçado da curva glicêmica (Ishida et al 1996). Para a interpretação desse parâmetro, houve o cálculo da área sob a curva conforme demonstrado por Matthews et al (1990).

As concentrações séricas de triacilgliceróis e colesterol total foram determinadas segundo Kaplan e Pesce (1989), utilizando-se kits laboratoriais da marca *CELM (Cia. Equipadora de Laboratórios Modernos; Barueri/SP)*. A concentração de colesterol foi inferida por método enzimático-colorimétrico pela concentração de quinonimina formada após ação da lipase sobre os ésteres de colesterol seguida de ação da colesterol oxidase sobre o colesterol, formando H_2O_2 e, sob ação da peroxidase, quinonimina, medida a 505 nm de absorbância (*Spectrophotometer Dr. Lange CADAS 100*). Os triacilgliceróis foram determinados também por método enzimático-colorimétrico pela concentração de 4-p-benzoquinonamonoiminofenazona, após ação de lipoproteína lipase sob os triacilgliceróis, da glicerol quinase sob o glicerol e da glicerol fosfato oxidase sob glicerolfosfato, formando então H_2O_2 e, sob ação da peroxidase, 4-p-benzoquinonamonoiminofenazona, medida a 505 nm de absorbância (*Spectrophotometer Dr. Lange CADAS 100*).

As concentrações de HDL-colesterol foram determinadas também com kit laboratorial da marca *CELM (Cia. Equipadora de Laboratórios Modernos; Barueri/SP)*, segundo Finley et al (1978), fundamentado no fato de que as lipoproteínas LDL e VLDL são precipitadas seletivamente pelo ácido

fosfatídico na presença de íons magnésio. No sobrenadante, separado por centrifugação, permanecem as HDL e a sua determinação é feita pelo colesterol ligado às mesmas, empregando o sistema enzimático/colorimétrico a 500 nm de absorvância (*Spectrophotometer Dr. Lange CADAS 100*).

A albuminemia foi dosada como indicativo de desnutrição, uma vez que a limitação no consumo alimentar poderia comprometer o estado nutricional dos animais. Para tanto, o soro obtido foi utilizado no mesmo dia do sacrifício para a dosagem da albumina sérica, segundo kit da marca *Bioclin* (*Quibasa Química Básica Ltda.*; Belo Horizonte/MG) conforme o método verde de bromocresol (Carter et al 1975; Batsakis et al 1976), o qual forma um complexo corado com a albumina, cuja leitura é a 630 nm de absorvância (*Spectrophotometer Dr. Lange CADAS 100*).

3.4) Análise dos Dados

Foram calculadas análises de variância bifatorial (ANOVA 2-way) considerando como fatores:

- 1) *tipo* de ração ingerida (controle ou hiperlipídica) e
- 2) *freqüência* de ingestão (padrão *nibbling* ou *gorging*).

Para cada variável foram testados os efeitos de cada um dos fatores isolados e da interação entre ambos.

Objetivando comparar as médias entre os 4 experimentais e testar a significância das diferenças entre elas, foram realizados testes de análise de variância (ANOVA) *a posteriori* (*post-hoc LSD-planned comparison*). O número de repetições testadas dependeu do número de animais utilizados para cada parâmetro avaliado, sendo informado em cada tabela ou figura o *n* de cada grupo. Todas as análises estatísticas foram efetuadas com o *software STATISTICA for Windows versão 5.0* (*StatísticaStatSoft, Inc. (1995). [Computer program manual]. Tulsa, OK: StatSoft, Inc., 2325 East 13th Street, Tulsa, OK 74104*). O nível de significância foi determinado em $p \leq 0,05$.

4) Resultados

Os dados relativos ao ganho ponderal estão apresentados na Figura 6. A análise bifatorial aplicada revelou significativa influência do tipo de ração no peso corporal, maior nos animais com dieta hiperlipídica, após 4 e após as 8 semanas de intervenção ($P < 0,01$). A frequência alimentar influenciou o ganho ponderal apenas nas primeiras 4 semanas (com maior ganho nos animais *gorging* – $P < 0,05$), não apresentando efeito significativo após as 8 semanas de intervenção. Não houve interação significativa entre o tipo e a frequência de ingestão sobre o peso corporal em nenhum momento do estudo.

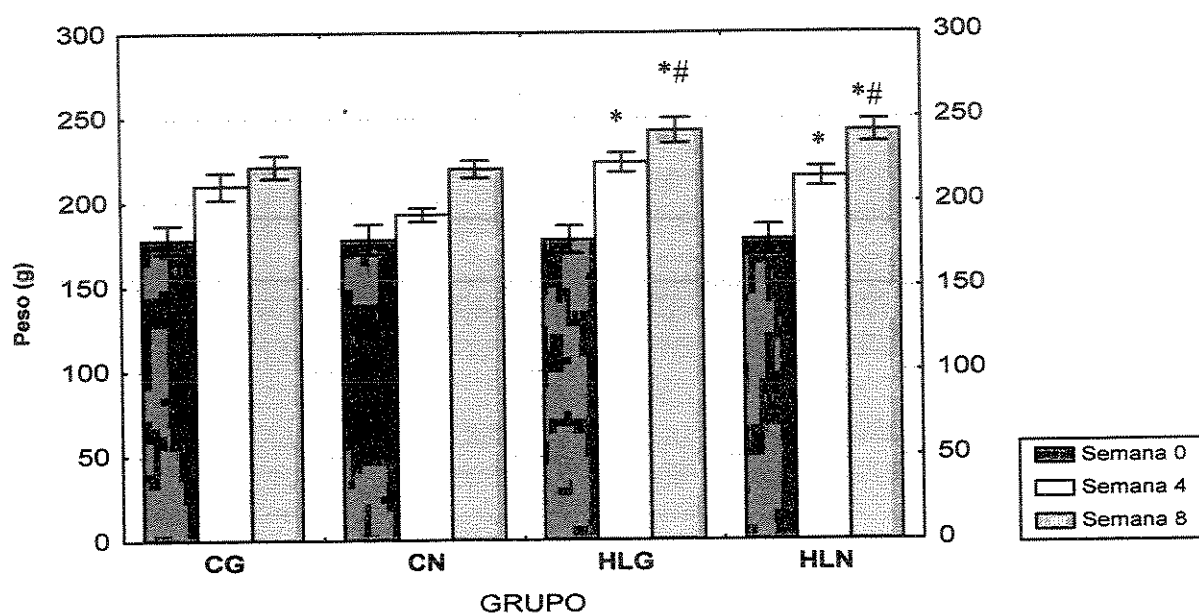


Figura 6: Peso corporal (média $\pm$ erro-padrão) ao longo do experimento (semana 0, semana 4 e semana 8) em cada grupo experimental

CG: controle *gorging* (n=12); CN: controle *nibbling* (n=12); HLG: hiperlipídica *gorging* (n=12); HLN: hiperlipídica *nibbling* (n=12);

*: $P < 0,05$ em relação ao CN para mesma semana de avaliação;

#: $P < 0,05$ em relação ao CG para mesma semana de avaliação;

Os pesos relativos ao peso corporal dos tecidos adiposos (corpo adiposo, tecido adiposo retroperitoneal e tecido adiposo marrom) estão apresentados na Figura 7. Nos três tecidos analisados, os maiores depósitos foram observados nos animais alimentados em dietas ricas em lipídios ($P < 0,001$). No caso do corpo adiposo, por exemplo, animais *nibbling* com a dieta hiperlipídica apresentaram este tecido cerca de 6 vezes mais pesado do que os controles; e nos animais sob dieta hiperlipídica *gorging* cerca de 2 vezes mais pesado do que nos controles *gorging*.

Não houve efeito significativo da frequência de ingestão sobre os pesos dos tecidos adiposos, revelando semelhante acúmulo de tecido adiposo entre *nibbling* e *gorging*. No entanto, pôde-se observar tendência ($P=0,06$) de maior acúmulo de corpo adiposo no grupo controle *gorging* em relação ao controle *nibbling*.

Houve interação significativa entre o tipo e a frequência de ingestão sobre os pesos do corpo adiposo ($P<0,01$) e tecido adiposo retroperitoneal ($P<0,05$): nos animais alimentados com a ração controle, o padrão *gorging* resultou maior peso destes tecidos; nos ratos alimentados com a ração hiperlipídica, o padrão *nibbling* apresentou maior peso nestes tecidos. Não houve interação significativa entre o tipo e a frequência de ingestão quanto ao peso relativo do tecido adiposo marrom.

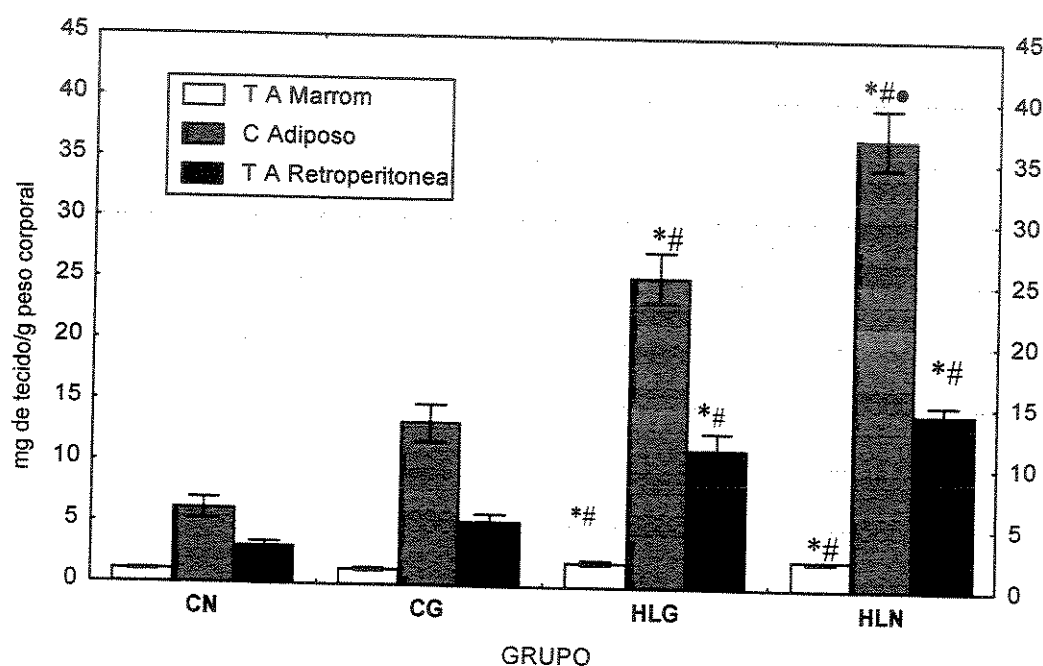


Figura 7: Pesos (média $\pm$ erro-padrão) dos depósitos de tecido adiposo (tecido adiposo marrom, corpo adiposo e tecido adiposo retroperitoneal) relativos aos pesos corporais anteriores ao sacrifício (mg de tecido/g peso corporal) em cada grupo experimental.

CG: controle *gorging* ($n=6$); CN: controle *nibbling* ($n=6$); HLG: hiperlipídica *gorging* ($n=6$); HLN: hiperlipídica *nibbling* ($n=6$);

*: $p<0,05$ em relação ao CN para a mesma variável;

#: $p<0,05$ em relação ao CG para a mesma variável;

•: $p<0,05$ em relação ao HLG para a mesma variável;

As figuras a seguir apresentam os conteúdos de gorduras extraídas das carcaças (Figura 8) e dos tecidos adiposos (Figuras 9 e 10). Novamente, os maiores depósitos foram observados nos animais alimentados com a dieta rica em lipídios (gorduras extraídas da carcaça e corpo adiposo) ($P<0,001$).

Houve influência significativa da frequência de ingestão, revelando maiores incorporações de gordura nos tecidos adiposos dos animais *gorging* (gorduras extraídas da carcaça, corpo adiposo e tecido adiposo marrom) ($P < 0,05$). Não houve diferença entre os grupos quanto ao teor de gorduras do tecido adiposo retroperitoneal.

Não houve interação significativa entre a tipo de dieta e frequência de ingestão quanto ao teor de gorduras dos tecidos adiposos brancos e marrom, porém houve interação significativa ($P < 0,05$) entre o tipo e a frequência de ingestão no conteúdo de gorduras extraídas das carcaças: com a ingestão da ração controle, o padrão *gorging* esteve associado ao maior conteúdo de gorduras; com a ração hiperlipídica, o padrão *gorging* e o padrão *nibbling* apresentaram conteúdos semelhantes.

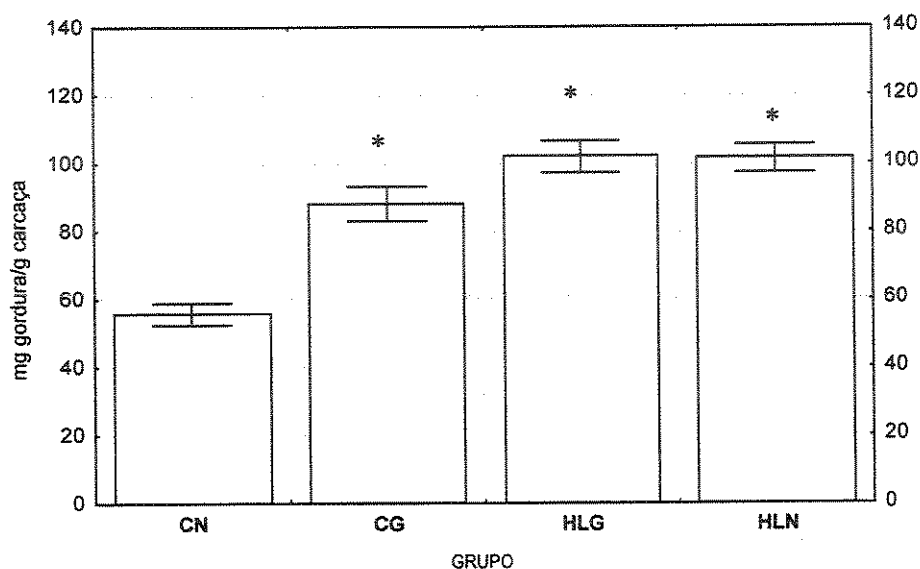


Figura 8: Conteúdo (média $\pm$ erro-padrão) de gorduras extraídas das carcaças (mg gordura/g carcaça) dos animais em cada grupo experimental.

CG: controle *gorging* (n=11); CN: controle *nibbling* (n=6); HLG: hiperlipídica *gorging* (n=11); HLN: hiperlipídica *nibbling* (n=6);

*: $p < 0.05$ em relação ao CN;

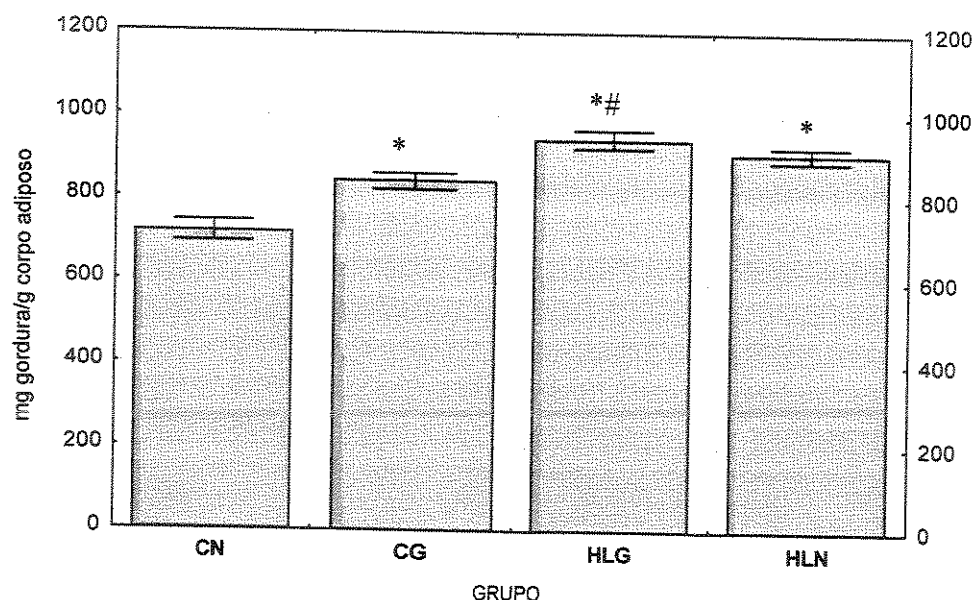


Figura 9: Conteúdo (média $\pm$ erro-padrão) de gorduras extraídas dos corpos adiposos (mg de gordura/g corpo adiposo) dos animais em cada grupo experimental.

CG: controle *gorging* (n=6); CN: controle *nibbling* (n=6); HLG: hiperlipídica *gorging* (n=6); HLN: hiperlipídica *nibbling* (n=6);

*: $p < 0.05$ em relação ao CN;

#: $p < 0,05$ em relação ao CG;

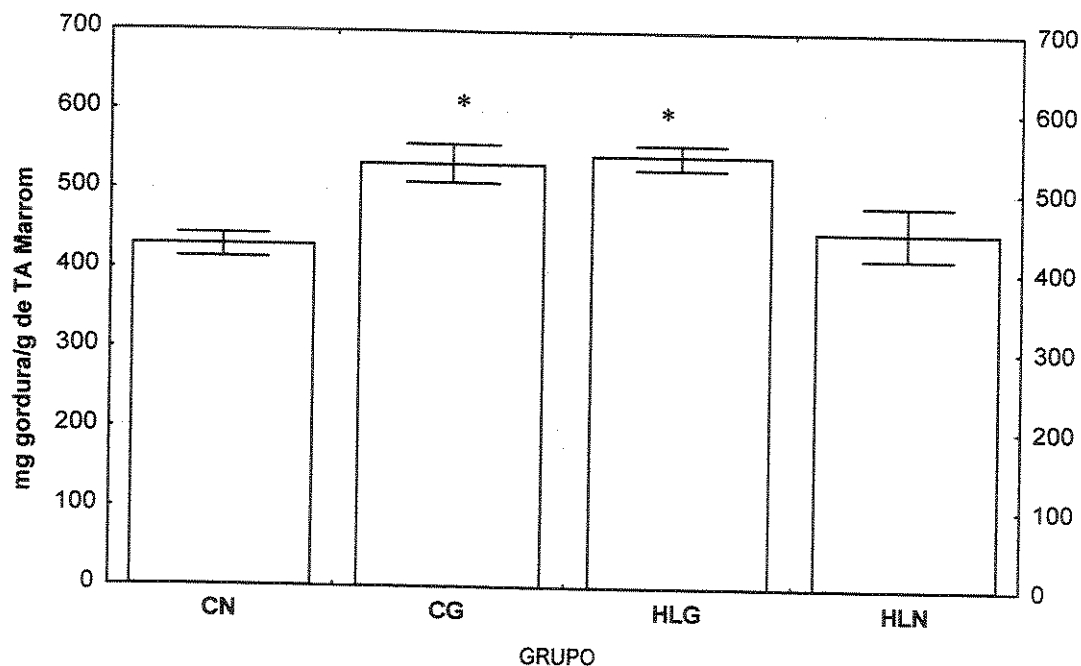


Figura 10: Conteúdo (média $\pm$ erro-padrão) de gorduras extraídas dos tecidos adiposos marrons (mg de gordura/g tecido adiposo marrom) dos animais em cada grupo experimental.

CG: controle *gorging* (n=5); CN: controle *nibbling* (n=6); HLG: hiperlipídica *gorging* (n=6); HLN: hiperlipídica *nibbling* (n=6);

*: $p < 0.05$ em relação a CN;

Os resultados do conteúdo de proteínas das carcaças dos animais não apresentaram diferenças entre os grupos (CG: $217,6 \pm 64,4$; CN: $202,7 \pm 66,5$; HLG: $184,8 \pm 79,8$; HLN: $193,5 \pm 89,9$ mg de proteínas/g de carcaça; n=6 em cada grupo), nem influência significativa de nenhum dos efeitos testados.

Os resultados obtidos quanto ao fígado dos animais estão apresentados nas Figuras 11 e 12. Notou-se efeito significativo do tipo de dieta no peso relativo do fígado ($P < 0,001$): animais controles possuíram fígados cerca de 20% mais pesados do que animais alimentados com dieta hiperlipídica. Por outro lado, não houve influência significativa da frequência de ingestão e da interação entre ambos os fatores testados neste parâmetro.

Não houve diferenças quanto ao conteúdo de gorduras extraídas dos fígados entre os grupos (CG: $51,4 \pm 23,4$; CN: $45,0 \pm 23,5$; HLG: $57,0 \pm 21,9$; HLN: $63,7 \pm 32,8$ mg de gorduras/g de fígado; n=6 em cada grupo), sem efeito significativo dos fatores testados.

Observou-se efeito significativo do padrão *gorging* no acúmulo de glicogênio no fígado ($P < 0,05$), com animais *nibbling* com menor conteúdo de glicogênio hepático (Figura 12). O tipo de ração não influenciou este parâmetro. O maior estoque de glicogênio hepático foi observado em animais com dieta hiperlipídica *gorging* (Figura 12). Os dados relativos ao glicogênio muscular estão também apresentados na Figura 12, e percebe-se que este parâmetro foi influenciado apenas pelo tipo de ração, cerca de 22% maior nos animais controle ($P < 0,05$).

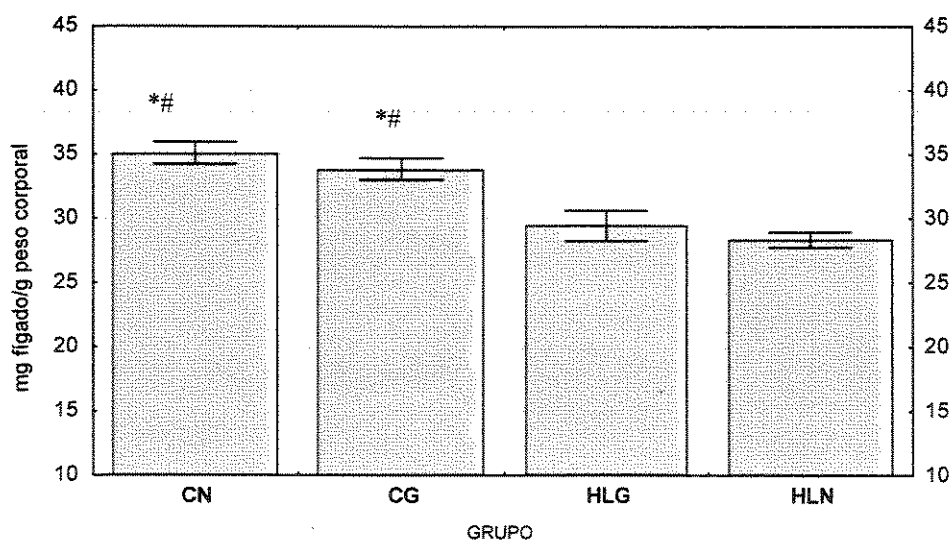


Figura 11: Pesos (média $\pm$ erro-padrão) dos fígados relativos aos pesos corporais anteriores ao sacrifício (mg de tecido/g peso corporal) em cada grupo experimental.

CG: controle *gorging* (n=6); CN: controle *nibbling* (n=6); HLG: hiperlipídica *gorging* (n=6); HLN: hiperlipídica *nibbling* (n=6);

*: $p < 0,05$ em relação ao HLG;

#: $p < 0,05$ em relação ao HLN;

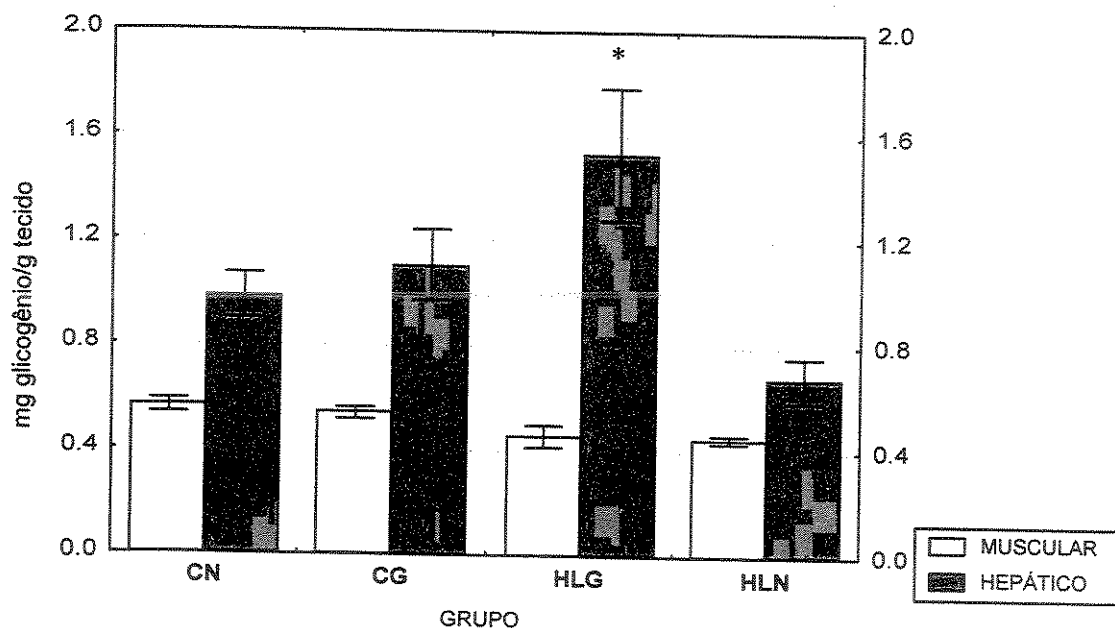


Figura 12: Conteúdo (média $\pm$ erro-padrão) de glicogênio muscular e hepático (mg de glicogênio/g de tecido) em cada grupo experimental.

CG: controle *gorging* (n=6); CN: controle *nibbling* (n=6); HLG: hiperlipídica *gorging* (n=6); HLN: hiperlipídica *nibbling* (n=6);
 *: p<0,05 em relação ao HLN;

Ao analisar os parâmetros séricos, não foram observadas diferenças na colesterolemia, trigliceridemia, HDL-séricos (Figura 13), insulinemia (CG: $5,08 \pm 2,42$; CN: $4,89 \pm 2,70$; HLG: $5,62 \pm 2,02$; HLN: $5,79 \pm 3,91$ uUI/mL; n=5 para CG e HLG; n=4 para HLN; n=3 para CN), e índice glicose/insulina (CG: $24,99 \pm 9,50$; CN: $26,83 \pm 12,58$; HLG: $21,71 \pm 5,12$; HLN: $24,24 \pm 14,19$; n=5 para CG e HLG; n=4 para HLN; n=3 para CN). Nenhum dos fatores testados apresentou influência significativa nestes parâmetros.

A albuminemia dos animais apresentou-se maior nos animais com dieta hiperlipídica ($P < 0,01$; CG: $4,41 \pm 0,28$; CN: $4,44 \pm 0,20$; HLG: $4,82 \pm 0,39$; HLN: $4,86 \pm 0,27$ mg/dL; n=6 em cada grupo). Não houve influência da frequência de ingestão, nem da interação entre tipo de dieta e frequência de ingestão na albuminemia.

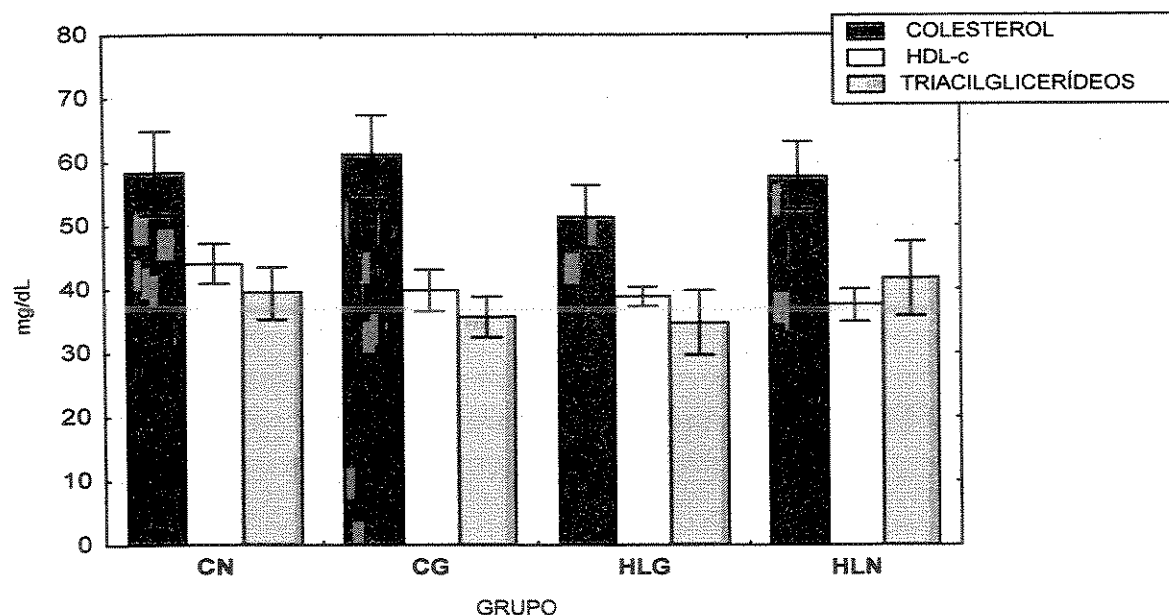


Figura 13: Colesterolemia, HDL sérico e trigliceridemia (média $\pm$ erro-padrão) em cada grupo experimental

CG: controle *gorging* (n=6); CN: controle *nibbling* (n=6); HLG: hiperlipídica *gorging* (n=6); HLN: hiperlipídica *nibbling* (n=6);

A glicemia obtida no sangue do tronco após 4 horas de privação alimentar relevou o maior valor em HLG (Figura 14), apesar desta não sofrer influência de nenhum dos dois fatores testados.

Contudo, durante o teste de tolerância oral à glicose, puderam ser notadas alterações na glicemia com significativas influências do tipo de ração e da frequência de ingestão (Tabela 3, Figura 15). As áreas sob a curva glicêmica na semana 0 foram idênticas entre os 4 grupos. Na oitava semana, notou-se que os grupos controle diminuíram e os grupos com dieta hiperlipídica mantiveram suas áreas semelhantes em relação à semana 0. Estas áreas mantiveram-se iguais entre as semanas 0 e 8 às custas de aumento nos valores das glicemias nos minutos 0 e 120 do teste oral de tolerância à glicose e diminuição aos 30 minutos para HLG; e aumento também aos 0 e 120 minutos e reduções não significativas em 30 e 60 minutos para HLN em relação ao período inicial. Comparando os animais com dieta hiperlipídica com os grupos controle na semana 8, notaram-se aumentos importantes tanto na área sob a curva, como nos minutos 60, 90 e 120, mais acentuados ainda em HLG que aumentou também no minuto 0; De fato, a análise bifatorial da glicemia aos 120 minutos do teste resume o ocorrido com o teste de tolerância oral a glicose: prejuízo na tolerância em função da alimentação hiperlipídica ($P < 0,0001$) e do padrão *gorging* ($P < 0,05$).

A fim de complementar a apresentação dos dados, todos os resultados obtidos bem como todas as análises estatísticas estão apresentadas no apêndice 1 na forma de Tabelas e em Figuras que ilustram a análise bifatorial para as variáveis testadas.

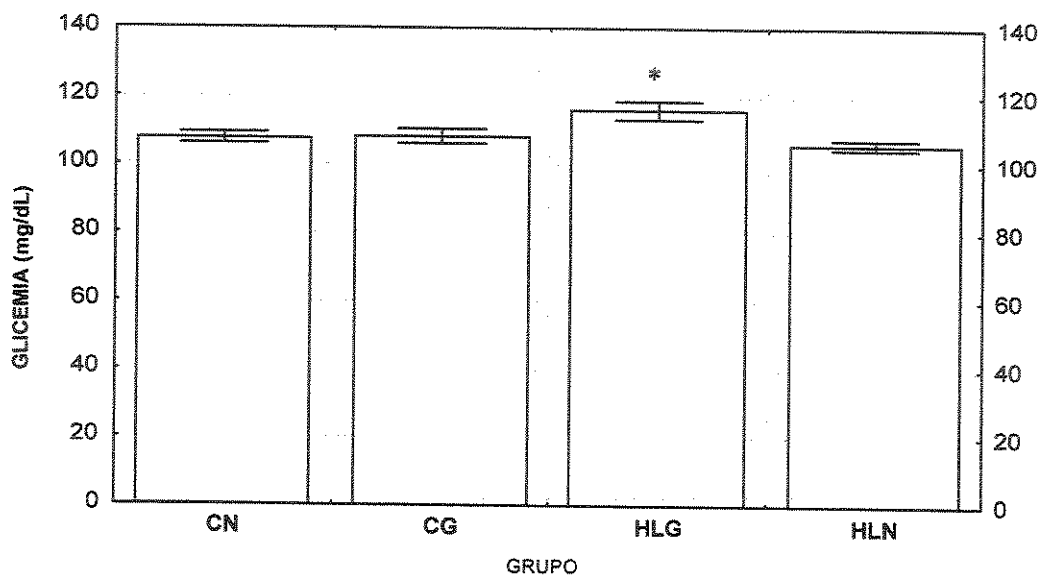


Figura 14: Glicemia (média $\pm$ erro-padrão) em cada grupo experimental.

CG: controle *gorging* (n=6); CN: controle *nibbling* (n=6); HLG: hiperlipídica *gorging* (n=6); HLN: hiperlipídica *nibbling* (n=6);
*: p<0,05 em relação a todos os demais grupos;

Tabela 3: Glicemia (mg/dL) a cada 30 minutos do teste oral de tolerância à glicose e área sob a curva glicêmica obtida neste teste ao início (semana 0) e ao final do experimento (semana 8) em cada grupo experimental (média $\pm$ desvio-padrão) [&]:

Grupos	Minutos					Área sob a curva glicêmica
	0	30	60	90	120	
Inicial (semana 0)						
CN	76,3 ± 4,7	132,5 ± 24,3	97,8 ± 11,8	88,2 ± 11,4	80,5 ± 6,1	11907,5 ± 1083,1
CG	76,0 ± 8,0	135,0 ± 29,4	96,0 ± 13,9	81,3 ± 7,1	76,8 ± 4,4	11662,5 ± 1420,8
HLG	76,2 ± 9,5	142,0 ± 24,6	110,3 ± 14,0	95,8 ± 14,6	83,2 ± 11,8	12835,0 ± 1038,0
HLN	70,8 ± 6,8	129,3 ± 22,6	110,8 ± 17,6	92,0 ± 14,1	75,8 ± 4,6	12165,0 ± 1057,3
Final (semana 8)						
CN	72,5 ± 3,8	111,0 ± 20,3	84,7 ± 7,8	80,2 ± 10,0	71,7 ± 8,8	10437,5 ± 1027,3 ^Δ
CG	73,2 ± 7,7	98,0 ± 9,9 ^Δ	88,5 ± 15,3	82,5 ± 10,8	76,8 ± 7,0	10320,0 ± 1096,3 ^Δ
HLG	99,8 ± 17,6 ^{*#Δ}	117,7 ± 29,5 ^Δ	109,5 ± 14,5 ^{*#}	103,8 ± 10,9 ^{*#}	96,0 ± 5,8 ^{*#Δ}	12867,5 ± 1774,1 ^{*#}
HLN	85,8 ± 13,1 ^Δ	112,5 ± 15,0	107,0 ± 7,3 ^{*#}	95,0 ± 5,4 ^{*#}	85,0 ± 8,5 ^{*Δ}	11997,5 ± 828,9 ^{*#}

[&]: CG: controle *gorging* (n=6); CN: controle *nibbling* (n=6); HLG: hiperlipídica *gorging* (n=6); HLN: hiperlipídica *nibbling* (n=6);

*: p < 0,05 em relação ao CN para o mesmo intervalo de tempo;

#: p < 0,05 em relação ao CG para o mesmo intervalo de tempo;

Δ: p < 0,05 em relação ao HLN para o mesmo intervalo de tempo;

Δ: p < 0,05 em relação à fase inicial (semana 0) dentro do mesmo grupo experimental;

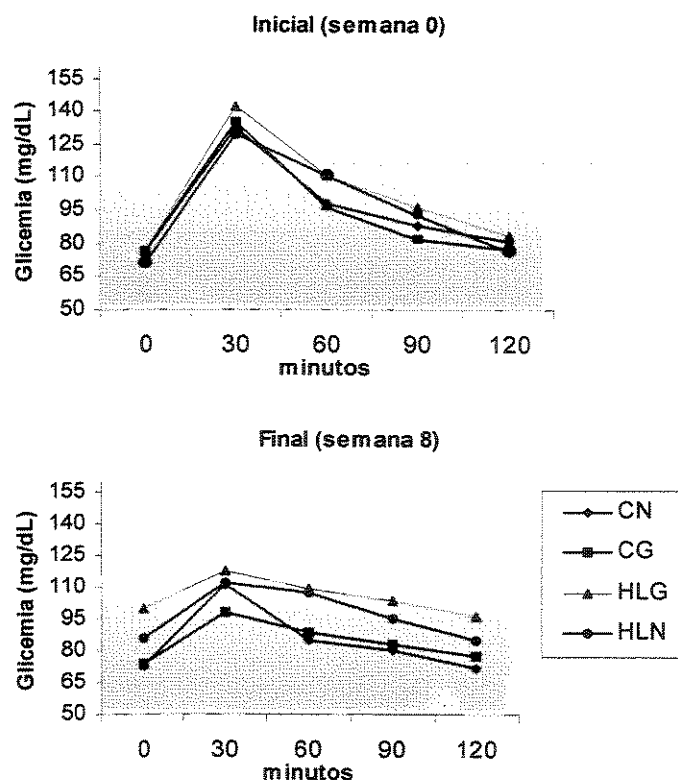


Figura 15: Glicemia (média) ao longo dos 120 minutos do teste oral de tolerância ao início (semana 0) e ao final do experimento (semana 8) em cada grupo experimental[&].

[&]: CG: controle *gorging* (n=6); CN: controle *nibbling* (n=6); HLG: hiperlipídica *gorging* (n=6); HLN: hiperlipídica *nibbling* (n=6); consulte tabela acima para verificação das diferenças significativas;

4) Discussão

Já foram demonstradas várias alterações metabólicas conseqüentes do comportamento alimentar esporádico ou do alto teor de gorduras na dieta, mas a interação entre ambos os fatores foi objeto de pouco estudo na literatura. Assim, este trabalho procurou avaliar a interação crônica entre ambos os fatores no desenvolvimento de obesidade e de intolerância à glicose em ratas, além de avaliar outros parâmetros envolvidos, tais como a lipemia. Para tanto, igualou-se a ingestão energética entre os grupos, deixando como únicas variáveis o tipo de ração ingerida (hiperlipídica ou controle) e a frequência de ingestão alimentar (*nibbling* ou *gorging*). Observaram-se significativas respostas aos comportamentos alimentares aplicados, principalmente quanto ao acúmulo de gordura corporal e a glicemia.

O ganho ponderal observado foi influenciado pelo tipo de ração consumida, já que animais ingerindo ração hiperlipídica apresentaram maior peso corporal durante (na quarta semana) e ao final (na oitava semana) do experimento do que os animais controle. A frequência alimentar influenciou o ganho ponderal apenas nas primeiras 4 semanas, com animais *gorging* apresentando maior peso corporal do que os animais *nibbling* nesta fase do estudo. Ao final do experimento, animais *nibbling* e *gorging* apresentaram semelhantes pesos corporais. É sabido que o peso corporal não é um bom indicativo da composição corporal, pois não fornece informação fidedigna acerca da composição relativa ou da qualidade do peso corporal do indivíduo (McArdle et al 1992). Avaliando-se apenas o peso, pode-se falsamente concluir que não há interferência da frequência de ingestão alimentar sobre a eficiência da utilização ou do armazenamento da energia consumida. Esta última é melhor avaliada medindo-se os depósitos de gordura corporais, que variaram consideravelmente em resposta aos comportamentos alimentares induzidos neste experimento.

Os dados quantitativos de tecido adiposo são expressivos quanto aos maiores depósitos observados nos animais alimentados em dietas ricas em lipídios, apresentando efeito significativo do tipo de ração em todos os parâmetros que indicam adiposidade neste estudo. Quanto à frequência de ingestão alimentar, analisando apenas o peso dos depósitos de gordura relativo ao peso corporal, pode-se concluir que a frequência de ingestão não interfere nos estoques de gordura corporais. No entanto, outros parâmetros apontam claramente a eficiência do padrão *gorging*, tais como gorduras extraídas dos corpos adiposos e dos tecidos adiposos marrons. Outros dados apontam que a interação entre o tipo de dieta e a frequência de ingestão tem efeito significativo: nos animais controle, o padrão *gorging* resultou maiores estoques; nos animais com dieta hiperlipídica, o padrão *nibbling* resultou maiores estoques (peso relativo dos corpos adiposos e dos tecidos adiposos retroperitoneais). Quanto ao total de gorduras extraídas das carcaças, houve semelhança entre os animais que ingeriram dieta hiperlipídica *nibbling* (HLN) e *gorging* (HLG).

Já foi demonstrado desenvolvimento de obesidade em animais alimentados com dietas hiperlipídicas, em comparação aos controles com ração normal em quantidades isocalóricas (West e York, 1998; Corbett et al 1986) ou não (Rozen et al 1994). O maior ganho de peso em resposta a dietas hiperlipídicas é um resultado clássico, principalmente em função do aumento dos estoques corporais de gordura conseqüente do balanço lipídico positivo (Flatt, 1987 e 1995; Melby et al 1998; Swinburn e Ravussin 1993; Tremblay e Alméras 1995, Prentice 1998; WHO 1998; Ravussin et al 2002). Segundo a teoria proposta por Flatt (1987 e 1995), não só os totais de energia ingerida e gasta regulam a quantidade dos estoques corporais, já que o balanço de cada macronutriente possui um rigoroso controle para ajustar seu consumo com sua oxidação (e vice-versa) e manter um estado de equilíbrio: o balanço de nitrogênio e de carboidratos é facilitado pela capacidade do organismo de ajustar as taxas de oxidação de aminoácidos e de glicose, respectivamente, aos seus consumos alimentares. No caso das gorduras, esse ajuste é bem menos preciso, sendo que o aumento no seu consumo não estimula a sua oxidação. Assim, o organismo aumenta os estoques de gordura corporal, sendo que a variação nas quantidades desta está diretamente ligada à oxidação lipídica (WHO 1998), a qual aumentará posteriormente, estabilizando-se num nível mais alto para igualar-se a mais alta ingestão de lipídios. Dessa forma, no caso das gorduras, há um atraso na elevação da oxidação em função do consumo elevado. Nos últimos anos, foram isoladas diversas substâncias secretadas pelo tecido adiposo que podem regular o balanço energético, o total de gordura corporal, a habilidade do organismo em responder à insulina e a utilizar metabolicamente a glicose, tais como a leptina, fator de necrose tumoral alfa, e a resistina (Frühbeck e Gómez-Ambrosi, 2001; Ravussin et al 2002). Apesar de nenhuma destas substâncias ter sido avaliada em nosso estudo, os trabalhos sobre a obesidade têm cada vez mais procurado compreender os mecanismos que controlam o peso corporal, e muitos progressos na aplicação da genética vêm ocorrendo para elucidar essas questões. Os estudos sobre ingestão alimentar e alterações de composição corporal têm cada vez mais ressaltado a importância da leptina, uma proteína produto do gene *ob* produzida pelo tecido adiposo, a qual age no sistema nervoso aumentando a saciedade (Maffei et al 1995; Pellymounter et al 1995). No estudo de Ainslie et al (2000), dietas hiperlipídicas em ratos reduziram a secreção de leptina: após 4 e 14 semanas de intervenção alimentar, animais em dieta hiperlipídica apresentaram menor concentração de leptina por unidade de tecido adiposo branco abdominal do que os controles (após 4 semanas: $0,15 \pm 0,01$ comparado com $0,24 \pm 0,02 \mu\text{g.L}^{-1}.\text{g}^{-1}$; após 14 semanas: $0,11 \pm 0,01$ comparado com $0,15 \pm 0,02 \mu\text{g.L}^{-1}.\text{g}^{-1}$), o que, segundo os autores, favoreceu o ganho de peso possivelmente pelo aumento no consumo alimentar. Em nosso estudo, o pareamento da ingestão energética entre os 4 grupos excluiu este efeito, apontando para as diferenças metabólicas desencadeadas pelos comportamentos alimentares. A proteína resistina foi descoberta em 2001 e foi proposto que esta seria o elo hormonal entre a obesidade, a resistência

periférica à insulina e o diabetes (Steppan et al 2001), já que a administração desta substância em animais piorou a tolerância à glicose e a ação insulínica, e pelo fato de suas concentrações estarem aumentadas em animais obesos geneticamente ou induzido por dieta (Steppan et al 2001). No entanto, o original trabalho de Way et al (2001) demonstrou que a expressão da resistina é significativamente menor no tecido adiposo branco de diferentes modelos de obesidade animal comparados com os controles magros. Esse estudo também demonstrou surpreendentemente que a expressão da resistina em animais obesos é aumentada em resposta a agonistas de PPAR γ (peroxissome proliferator-activated receptor gamma), drogas que melhoraram a ação da insulina aprovada para o tratamento de diabetes mellitus tipo 2. Pode-se perceber assim que os mecanismos que regulam a obesidade e a resistência à insulina ainda não foram compreendidos. A natureza poligênica destas complexas alterações metabólicas, a obesidade e o diabetes mellitus, torna a descoberta de genes responsáveis pelo desenvolvimento das mesmas extremamente difícil, embora muitos grupos estejam intensivamente envolvidos com estas pesquisas (Ravussin et al 2002).

Em resposta à frequência de ingestão alimentar, o peso corporal ao final das 8 semanas foi semelhante entre os animais *nibbling* e *gorging*. Quando os animais não apresentavam ingestão pareada (Francischi et al 2001a) houve uma resposta ponderal maior em animais *nibbling* do que em *gorging*, sendo que os últimos ingeriram em média 62% da ingestão observada nos animais *nibbling*. Esta discrepância na ingestão alimentar e a conseqüente diferença nas dimensões corporais, maior em animais *nibbling*, já foram bem descritas nos experimentos com ratos (Romsos e Leveille, 1974, Stevenson et al. 1964; Curi et al 1986; de Bont et al 1975; Ozelci et al.; 1978; Belda 1987a; Belda 1987b), porém com frangos (Maiuri et al 1975) ou porcos (Alee et al 1972), mesmo ingerindo menos alimento, os animais *gorging* ganharam peso igualmente ao observado em animais *nibbling*. Em frangos, esse ganho ponderal chegou a ser maior em animais *gorging* com menor ingestão alimentar (Leveille e Hanson, 1965)

Poucos estudos foram encontrados que iguallassem o consumo alimentar entre *nibbling* e *gorging*. Ao contrário de nosso trabalho, Kerwick e Parwan (1966) notaram que a alimentação em camundongos com quantidades isocalóricas da mesma dieta através de sondas por duas horas/dia (*gorging*) ou *ad libitum* (*nibbling*) resultou maior índice de ganho de peso (e também de gordura na carcaça) nos animais *gorging*. Por outro lado, também em estudos com camundongos, Baker et al (1976) não observaram diferenças na ativação de lipogênese entre animais *nibbling* e *gorging*. Talvez esta discrepância em relação aos nossos resultados ocorra em função da espécie estudada, já que outros trabalhos em ratos obtiveram os mesmos resultados de semelhança no ganho ponderal em grupos com ingestão pareada *nibbling* e *gorging* (Fabry et al 1963; Romsos e Leveille, 1974; Pocknee e Heaton 1976). Romsos e Leveille (1974) realizaram um estudo pioneiro com resultados semelhantes aos

nossos. Ratos foram alimentados *ad libitum* (*nibbling*) ou por apenas 2h/dia (*gorging*) com 4 tipos diferentes de dietas durante 34 dias: 1) hiperglicídica, cuja fonte de carboidratos era a glicose; 2) hiperglicídica, cuja fonte carboidratos era a sacarose (ambas com apenas 12% do valor calórico total de lipídios); 3) rica em lipídios com presença de glicose; ou 4) rica em lipídios com presença de sacarose (ambas com 50% do valor calórico proveniente de lipídios). A alimentação do tipo *gorging* resultou menor peso corporal, sendo que os animais *gorging* consumiram menos ração por dia. Por outro lado, os grupos com dieta hiperlipídica apresentaram maior peso corporal do que os com dieta hiperglicídica, independentemente da frequência de ingestão alimentar, semelhante ao que observamos. Ainda neste estudo, os autores ajustaram o consumo isocalórico (apenas para a primeira dieta, rica em carboidratos com glicose) entre grupos *nibbling* e *gorging* através da realização de um terceiro grupo (*nibbling pair-feeding*) durante 26 dias e observaram que estes grupos ajustados apresentaram o mesmo ganho ponderal, o que ocorreu entre os grupos controle *gorging* (CG) e controle *nibbling* (CN) em nosso trabalho.

Discutindo o papel da frequência de ingestão alimentar sobre a lipogênese, há informações contraditórias na literatura. O padrão de ingestão *gorging* em humanos demonstrou aumentar a lipogênese (Fabry et al 1964; Bray 1972) e o peso corporal (Dalosso et al 1982; Bray 1972), apesar de não influenciar o gasto energético (Bellisle et al 1997; Venne et al 1993). Numa revisão (Bellisle et al, 1997) sobre a relação entre o balanço energético e a frequência de ingestão alimentar em humanos, os autores descrevem que as evidências epidemiológicas são fracas quanto ao ganho de peso e gasto energético, e concluem que qualquer influência da frequência de alimentação sobre a regulação do peso afeta unicamente, na equação de balanço energético, a variável ingestão alimentar. Em nosso estudo com ratas submetidas à ingestão pareada essas observações não podem ser válidas e certamente efeitos metabólicos ocorreram em resposta aos comportamentos alimentares estudados. De fato, os trabalhos mais antigos sobre frequência de ingestão alimentar em estudos experimentais apontam eficiência do padrão *gorging* no acúmulo de gorduras corporais (Leveille, 1972; Fabry e Tepperman, 1970; Fabry e Braum, 1967; Conh e Joseph, 1960; Conh et al 1962; Leveille e Hanson, 1965; Kerwick e Parwan, 1966; de Bont et al 1976; Fabry et al 1963).

O consumo intermitente (*gorging*) induz a uma série de respostas que garantem essa eficiência, já bem descritas em ratos, tais como: hipertrofia intestinal e maior absorção de glicose (Fabry e Tepperman, 1970; Leveille, 1972); aumento na atividade de enzimas responsáveis pela lipogênese (descritas na introdução); aumento no anabolismo em geral, considerando o aumento na insulinemia e aumento na sensibilidade à insulina no tecido adiposo (Fabry e Tepperman 1970). Braum et al (1965) demonstrou que após 48 horas de alimentação, o aumento de RNA nos tecidos adiposos de animais *gorging* realimentados é maior do que o observado em controles *nibbling* alimentados, o que está relacionado ao aumento na capacidade lipogênica. Utilizando isótopos radioativos em incubações de

tecidos adiposos de animais *gorging* após 22 horas de privação alimentar ou após 22 horas de jejum seguidas de 2 horas de alimentação, Leveille (1967) demonstrou a importância da glicose na lipogênese dos ratos. Durante o período de jejum, os animais tiveram a lipogênese reduzida pela elevada concentração de ácidos graxos livres. Houve maior capacidade lipogênica no estado alimentado e a glicose derivada de glicogênio foi a maior responsável, já que ambos piruvato e glicose estimulam a biossíntese de ácidos graxos, presumivelmente pela esterificação de ácidos graxos a triacilgliceróis, através da conversão de glicose e piruvato em glicerolfosfato. Da mesma forma, o estudo de Armstrong et al (1976) demonstrou que a alimentação intermitente não induz a um crônico estado de hiperlipogênese, e sim a aumentos cíclicos de síntese de ácidos graxos, entre 2 e 8 horas após a alimentação, seguidos por um período de aumento na oxidação lipídica. Nos dias iniciais de adaptação ao consumo intermitente, foi demonstrada diminuição em várias enzimas lipogênicas, o que se justificou pela redução na ingestão alimentar. As enzimas estudadas foram a enzima málica (EC. 1.1.1.40), a citrato liase (EC. 4.1.3.8), a acetil-CoA carboxilase (EC. 6.4.1.1) e o complexo multienzimático da sintase de ácidos graxos (EC. 2.3.1.85). Apesar disso, houve aumento na síntese de ácidos graxos medida com glicose e acetato marcados (*in vitro*) e água marcada com trítio (*in vivo*), demonstrando que a quantidade de enzimas lipogênicas existe em excesso suficiente para suportar o aumento de lipogênese. Apesar desses dados, foram observadas, em diferentes compartimentos metabólicos de ratos, várias atividades enzimáticas em resposta adaptativa ao consumo intermitente, demonstrando que cronicamente muitas têm suas atividades aumentadas (Figuras 2, 3 e 4). O tecido adiposo é o que apresenta a maior adaptabilidade bioquímica ao padrão alimentar intermitente. As enzimas responsáveis pela lipogênese neste tecido estão aumentadas, assim como a via glicolítica (Chakrabarty e Leveille, 1968; Leveille, 1972) e a via das pentoses (Leveille, 1972), provendo substratos para a síntese de lipídios. No fígado, as enzimas responsáveis pela lipogênese estão inalteradas, provavelmente porque este órgão está anabolicamente objetivando a síntese de glicose, já que as enzimas responsáveis pela neoglicogênese estão elevadas. No músculo, há maior captação de glicose. Cuthbertson (1967) ressalta ainda que morfológicamente o tecido adiposo transforma-se em resposta à alimentação intermitente, e que o aumento da lipogênese é o resultado não apenas do aumento de tamanho dos adipócitos (hipertrofia), e também da hiperplasia deste, demonstrada pelo aumento no conteúdo de DNA deste tecido.

Leveille (1972) concluiu que afirmar categoricamente que há maior taxa de síntese de gorduras em consequência da baixa frequência de ingestão alimentar talvez seja arriscado mas, potencialmente, animais *gorging* possuem as adaptações enzimáticas que favorecem a esta resposta metabólica. Essa é uma observação importante, já que muitos estudos com ingestão pareada entre animais *nibbling* e *gorging* (Pocknee e Heaton 1976; Hill et al 1988; Schoenborne e Canolty 1980; Wood e Reid 1975; Ozelci et al 1977 e 1978) não observaram maior ganho de peso ou acúmulo de gorduras em animais

com alimentação esporádica, embora alguns estudos que falharam em observar essa maior eficiência tenham demonstrado que, metabolicamente, as vias estão adaptadas para este objetivo (Palmquist et al, 1977). As taxas de síntese de ácidos graxos a partir de carbonos da glicose no tecido adiposo epididimal de ratos *gorging* é quase 100 vezes maior do que a dos *nibbling* (Palmquist et al 1977). De fato, nossos resultados quanto às dimensões das reservas de gordura e ao peso corporal falharam em demonstrar a maior eficiência do padrão *gorging*, o que é semelhante à maioria dos estudos com ingestão pareada entre animais *nibbling* e *gorging* (Pocknee e Heaton 1976; Hill et al 1988; Schoenborne e Canolty 1980; Wood e Reid 1975; Ozelci et al 1977 e 1978). No entanto, nossos dados de extração de gorduras revelam a maior incorporação desta nos tecidos adiposos e nas carcaças dos animais com alimentação esporádica (*gorging*), parâmetro que não foi avaliado em nenhum dos estudos acima citados. De fato, para que essa maior incorporação de gorduras possa ocorrer nos animais *gorging*, todas as adaptações na maquinaria enzimática da lipogênese devem primeiramente estar aumentadas, o que está de acordo com a literatura apresentada.

No estudo mais recente identificado na literatura sobre a alimentação intermitente (Diaz-Munoz et al 2000), os autores trazem várias respostas hormonais e bioquímicas interessantes que podem justificar nossos dados sobre a eficiência metabólica do padrão alimentar *gorging*. Ratos *Wistar* divididos em alimentados *ad libitum* ou restritos (com 2 horas de alimentação diária, semelhante ao *gorging* do nosso estudo) por 3 semanas foram sacrificados em 6 horários diferentes, antes, durante e após o período de alimentação. Com isso, foi possível traçar temporalmente alguns hormônios e metabólitos em resposta ao esquema alimentar, e os autores descreveram uma atividade de antecipação (cerca de 2 a 3 horas antes do acesso ao alimento) do metabolismo do fígado para otimizar o processamento dos nutrientes vindos da única alimentação diária. Os animais com a denominada restrição alimentar apresentaram maior concentração de ácidos graxos livres, corpos cetônicos, corticoesterona, glucagon e menor insulina circulantes antes do horário de alimentação. Após a alimentação, a insulinemia permaneceu com maior elevação neste grupo do que nos controles. Estudando o potencial redox do hepatócito (através da relação das concentrações dos substratos piruvato/lactato, acetoacetato/beta-hidroxibutirato, NAD^+/NADH), foi observada uma promoção do estado oxidado no período pré-alimentação dos animais com padrão *gorging*, tanto no citoplasma como na mitocôndria, o que é considerado um indicador da alta atividade metabólica desta célula, preparando-a para otimizar o uso dos nutrientes a serem ingeridos. O aumento no fluxo de equivalentes redutores para a mitocôndria cerca de 2 horas antes do horário de início da alimentação esteve elevado em 300 vezes nos animais com padrão *gorging*, garantindo a maximização do uso dos combustíveis para produção de ATP. Os autores concluem que estas respostas adaptativas implicam uma função de antecipação do fígado no controle do balanço energético, cuja causa desta antecipação ainda permanece desconhecida, seja ela intrínseca, endócrina ou neural.

Um fato interessante obtido foi quanto à interação significativa entre o tipo de dieta e a frequência de ingestão em alguns parâmetros, já que nos animais com dieta hiperlipídica, o padrão *nibbling* resultou semelhantes extrações de gorduras das carcaças e maiores pesos relativos dos corpos adiposos e dos tecidos adiposos retroperitoneais do que os animais *gorging*. Foram identificados três estudos que associaram composição da dieta e frequência de ingestão alimentar. Romsos e Leveille (1974) claramente notaram importante decréscimo nas taxas de biossíntese de ácidos graxos, atividade do complexo da ácido graxo sintase (EC. 2.3.1.85) e da enzima málica (EC. 1.1.1.40) no fígado e no tecido adiposo dos animais com dieta hiperlipídica do que os com dieta hiperglicídica, o que é justificável dada a disponibilidade de gorduras frente ao balanço lipídico positivo. Além disso, parece não terem ocorrido diferenças nestes parâmetros entre os animais *nibbling* e *gorging* alimentados com esta dieta, embora as análises estatísticas não estejam claras. No entanto, os autores também observaram claros prejuízos na tolerância à glicose em animais com dieta rica em lipídios (em concordância com nossos dados), sendo estes ainda maiores nos animais *nibbling* do que nos *gorging* (o oposto do que observamos). Ozelci et al (1977) realizaram uma série de experimentos com animais *nibbling* e *gorging* em diferentes dietas (10, 20, e 30% de caseína, hiperglicídica, ou 20% de caseína hiperlipídica) com ingestão pareada. Não foram observadas diferenças entre *nibbling* e *gorging* no peso e composição corporais e na retenção de nitrogênio. Curiosamente, animais com a dieta hiperlipídica ganharam menos peso e retiveram menos nitrogênio do que os com dieta hiperglicídica, fato não discutido pelos autores. Por fim, Wood e Reid (1975) estudando ratos *nibbling* (6 refeições diárias) e *gorging* (1 refeição diária por 4 horas) recebendo quantidades isoenergéticas de dietas hiperlipídicas ou hipolipídicas durante 76 dias também demonstraram depressão na lipogênese em animais com excesso de gordura na dieta. As adaptações no aumento do tamanho do trato gastrointestinal foram semelhantes nos animais *gorging* em dieta hiper ou hipolipídica. Porém, animais em dieta hiperlipídica *gorging* cresceram mais lentamente, apresentaram tecidos adiposos um pouco menores e incorporaram nos tecidos adiposos pouca gordura a menos do que os *nibbling* (Wood e Reid 1975). De fato, assim como em nosso estudo, o consumo intermitente não aumenta a já elevada eficiência da alta ingestão de gorduras no acúmulo de tecido adiposo. Além disso, como abordado anteriormente, a disponibilidade da glicose é importantíssima para a lipogênese de ratos (Leveille 1967): a elevada concentração de ácidos graxos livres inibe a lipogênese, e ambos piruvato e glicose estimulam a biossíntese de ácidos graxos, presumivelmente pela esterificação de ácidos graxos em triacilgliceróis. Assim sendo, a baixa oferta de carboidratos e a alta concentração de ácidos graxos livres nas ratas com ingestão hiperlipídica, prejudicada pela alimentação intermitente, parecem ter sido importantes para impedir a eficiência do padrão *gorging* no acúmulo de gorduras corporais nestes animais.

Os diferentes tecidos adiposos estudados revelaram respostas diferentes às intervenções alimentares. Após 8 semanas de dieta hiperlipídica, os três tipos estudados de tecidos adiposos foram

maiores (tecido adiposo retroperitoneal, corpo adiposo e tecido adiposo marrom), porém o conteúdo de gorduras foi maior apenas no corpo adiposo e nas carcaças. Assim, percebem-se estímulos diferentes para a expansão dos mesmos, apontando para uma forte regulação local no crescimento destes (DiGirolamo et al 1998). Segundo DiGirolamo et al 1998, o tecido adiposo retroperitoneal de ratos *Wistar* com peso ao redor de 300g é aumentado principalmente por hiperplasia, enquanto o tecido adiposo epididimal (equivalente no macho ao corpo adiposo das fêmeas) é aumentado por hipertrofia e hiperplasia concomitantemente. Essa talvez seja uma explicação para o aumento no corpo adiposo dos animais ter sido tanto em relação ao peso corporal como para o conteúdo de gorduras, já que sua capacidade proliferativa parece ser maior do que a do tecido adiposo retroperitoneal nessa faixa etária dos animais. Além disso, o corpo adiposo seria o equivalente ao tecido adiposo visceral em humanos, tornando suas respostas à lipogênese ainda mais relevantes dada a correlação entre tecido adiposo visceral e comorbidades associadas à obesidade (Kissebah et al 1982; Carey et al 1996; Gower et al 1998; WHO 1998). Segundo DiGirolamo et al (1998), o tecido adiposo epididimal e retroperitoneal são moderadamente vascularizados e inervados quando comparados ao mesentérico, por exemplo. Alguns estudos demonstram que quanto maior o fluxo sanguíneo que atinge o tecido adiposo maior a resposta deste tecido à lipólise devido a maior quantidade de substâncias lipolíticas (como glucagon e catecolaminas) na circulação que podem sensibilizar este tecido (Bartness e Bamshad 1998). Além disto, a direta inervação do tecido adiposo branco pelo sistema nervoso simpático tem importante papel regulatório no crescimento destes tecidos, via modulação de processos metabólicos como a lipólise e o aumento da permeabilidade capilar. Esta alteração na permeabilidade capilar pode resultar em menor mobilização lipídica, uma vez que para a albumina seguir para o espaço intersticial e transportar os ácidos graxos liberados na lipólise, existe a necessidade de aumento da permeabilidade dos capilares. Quando isto não ocorre, um aumento das concentrações de ácidos graxos no interstício será a consequência, que, por fim, inibirá a lipólise (Newsholme e Leech 1988). Quando os tecidos adiposos têm sua inervação retirada, o estímulo lipolítico é reduzido e a capacidade proliferativa é aumentada, devido ao menor estímulo lipolítico via catecolaminas (Bartness e Youngstrom 1997). No caso do tecido adiposo subcutâneo inguinal, foram observadas menores inervações e fluxo sanguíneo, e maior capacidade proliferativa (DiGirolamo et al 1998), ou seja, menor resposta lipolítica. Seu crescimento em ratos com peso ao redor de 300g deu-se principalmente por hiperplasia (DiGirolamo et al 1998). Em nosso estudo, o equivalente ao tecido adiposo subcutâneo seria a extração de gorduras das carcaças dos animais, que apresentou nítido acúmulo em resposta à dieta hiperlipídica.

Outro ponto a ser discutido quanto aos depósitos adiposos frente aos comportamentos alimentares é a clara eficiência do padrão *gorging* no maior conteúdo de gorduras especificamente do tecido adiposo marrom, sem influência do tipo de ração. Esse é um dado original de nosso estudo, já que os trabalhos realizados até o momento não investigaram este tecido, o qual é mais vascularizado e

tem maior densidade mitocondrial do que o tecido adiposo branco, e possui como principal função a produção de calor (Greenwood e Johnson 1977). Apesar de classicamente as alterações histoquímicas e bioquímicas do tecido adiposo marrom estarem mais ligadas ao estresse térmico do que às variações alimentares (Greenwood e Johnson 1977), nossos dados demonstram a nítida eficiência do consumo intermitente no acúmulo de gorduras teciduais. Essa pode ser uma consequência do menor uso de gorduras na termogênese e no metabolismo basal em animais *gorging*. Em resposta ao jejum intermitente crônico, as taxas de neoglicogênese são aumentadas (Chakrabarty e Leveille 1968), o que implicaria no uso de substratos tais como as proteínas para a biossíntese de glicose, com redução na massa magra. O peso final foi semelhante entre animais *nibbling* e *gorging* e houve maiores depósitos de tecidos adiposos em animais *gorging*, o que pode indicar uma redução na massa magra total dos *gorging* em relação aos *nibbling*. Isso resulta em custos metabólicos menores, já que as taxas metabólicas da massa magra são maiores do que da massa gorda. Essa estratégia de redução de tecidos metabolicamente ativos frente à limitação no consumo alimentar é bastante eficiente, objetivando permitir a sobrevivência do indivíduo (Shetty 1990). Experimentos sobre a termogênese e o metabolismo basal em resposta ao consumo intermitente crônico serão necessários para elucidar até que ponto essa economia de gorduras no tecido adiposo marrom dos grupos CG e HLG é realmente uma consequência da redução nas taxas metabólicas desses animais.

Cerca de 22% das calorias ingeridas por ratos *gorging* são armazenadas na forma de glicogênio (Leveille e Chakrabarty, 1967), tornando importante analisar as concentrações deste polissacarídeo frente ao consumo *gorging* crônico. Como esperado, o glicogênio muscular mostrou-se dependente do tipo de ração. Já é clássico que dietas ricas em carboidratos podem aumentar esse estoque e que dietas ricas em lipídios podem depletar o conteúdo de glicogênio muscular (Bergstrom et al 1967), recurso muito utilizado em treinamento esportivo a fim de retardar a fadiga do músculo esquelético frente às altas demandas energéticas do exercício (Hermansen et al 1967). Não observamos influência da frequência de ingestão neste parâmetro, ao contrário do que seria esperado frente à maior atividade da enzima hexoquinase muscular (EC. 2.7.1.1) (Chakrabarty e Leveille, 1968). Por outro lado, embora alguns estudos tenham observado aumento no estoque de glicogênio muscular 2,5 vezes maior em animais *gorging* (Leveille e Chakrabarty, 1967), as enzimas musculares de glicogênese não apresentaram maiores atividades em resposta adaptativa ao consumo alimentar intermitente (Wiley e Leveille 1970). O estudo de Leveille e Chakrabarty (1968) observou maior efeito do padrão *gorging* (durante 3 semanas) sobre o conteúdo de glicogênio muscular, sendo que o grupo *gorging* consumiu mais alimento do que os animais *nibbling* e apresentou melhor tolerância à glicose. Vários argumentos podem justificar a discrepância entre nossos resultados e os obtidos por Leveille e Chakrabarty (1968) quanto ao efeito da frequência alimentar no conteúdo de glicogênio muscular. Por exemplo, a ingestão pareada entre os grupos e o tempo de intervenção dietética, já que oito semanas de estudo podem ser

suficientes para alterar a tolerância à glicose nos animais *gorging*. Assim, o fornecimento isocalórico de carboidratos entre os grupos CG e CN teria impedido o grupo CG de manifestar significativamente suas adaptações metabólicas para melhor manutenção deste estoque, o que não ocorreu no estudo de Leveille e Chakrabarty (1968). Além disso, o grupo HLG apresenta-se com a pior tolerância à glicose, e há chances do tecido periférico estar resistente à insulina neste caso. Apesar dessa piora na tolerância à glicose ser acentuada nesse grupo, os dados da glicemia aos 120 minutos do teste oral de tolerância à glicose revelam influência do padrão *gorging* piorando esta tolerância, tanto para a dieta controle como para a dieta hiperlipídica. Assim, parece justificável em nosso estudo que a musculatura do grupo *gorging* após oito semanas deste comportamento alimentar não seja tão eficiente na captação de glicose e conseqüentemente no estoque de glicogênio como observado por outros autores.

Analisando o fígado e o conteúdo de glicogênio muscular e hepático, observa-se claramente que, em relação ao peso corporal, os animais controle têm maiores dimensões hepáticas, sem influência da frequência de ingestão. Esse maior tamanho proporcional de fígado não pode ser atribuído exclusivamente ao conteúdo hepático de gorduras e de carboidratos entre os grupos controle e hiperlipídica, já que não houve diferenças significativas. No entanto, os grupos controle apresentaram pesos corporais inferiores aos grupos com ingestão hiperlipídica, justificando a diferença no tamanho do fígado relativamente ao peso corporal. Talvez alterações no conteúdo de proteínas possam ser responsáveis pelas diferentes dimensões hepáticas relativas ao tipo da dieta, como será discutido a seguir.

Comparando-se animais *nibbling* e *gorging*, estudos revelaram maiores fígados com alimentação intermitente (Muiruri et al 1975; Belda, 1987a; Pocknee e Heaton, 1978), provavelmente em resposta ao maior conteúdo de glicogênio hepático em animais *gorging* (Curi e Hell 1986; Björntorp et al 1983; Hollifield e Parson 1962). Já foram demonstradas maiores atividades no fígado da piruvato carboxilase (EC. 6.4.1.1) e da fosfoenolpiruvato-carboxiquinase (EC. 4.1.1.32) em animais *gorging*, justificando sua adaptação metabólica para maiores taxas de neoglicogênese (Chakrabarty e Leveille, 1968). O uso de ácidos graxos livres como principal substrato energético para estes animais também justifica a economia de glicogênio (Hollifield e Parson, 1962). Nosso trabalho também demonstra efeito significativo do padrão *gorging* no acúmulo de glicogênio hepático, porém a magnitude do órgão dependeu do tipo de ração, como discutido anteriormente.

De fato, Björntorp et al (1983), estudando o efeito da realimentação rica em lipídios ou em carboidratos após 65 horas de jejum, observaram significativa diminuição no fígado dos ratos realimentados com dieta hiperlipídica (resultado semelhante ao nosso), bem como nas suas concentrações de glicogênio. Como esperado, os estoques de tecido adiposo também foram maiores em consequência desta dieta, assim como a atividade da lipoproteína lipase (EC. 3.1.1.34).

Um resultado bastante interessante obtido em nosso estudo é o maior estoque de glicogênio hepático em animais com dieta hiperlipídica *gorging*. O maior estoque de glicogênio hepático em resposta a uma dieta hiperlipídica não foi observado em outros estudos com intervenções hiperlipídicas mais curtas, tais como 4 semanas (Bryson et al 1995) ou 5 semanas (Schindler e Felber, 1986), porém em nossos animais esta resposta provavelmente está relacionada a toda a alteração no metabolismo de carboidratos exacerbada pela combinação crônica da dieta hiperlipídica e da baixa frequência de ingestão alimentar. Maiores taxas de neoglicogênese, maior capacidade de estoque e menor mobilização deste glicogênio parecem influenciar a manutenção desta alta concentração hepática, onde tecidos periféricos podem estar resistentes à insulina, sendo que o pâncreas pode ter iniciado o processo de falência. Já foi demonstrado que ácidos graxos livres (AGL) estimulam a neoglicogênese (Chen et al 1999), inclusive no estado pós-absortivo (Roden et al 2000), e sabe-se que a combinação entre a dieta hiperlipídica e a baixa frequência de ingestão alimentar causa aumento na utilização de AGL. De fato, um defeito na supressão da produção endógena de glicose tem um importante papel na intolerância à glicose induzida por lipídios (Rigalleau et al 1998). Além dos efeitos *in vitro*, manipulações dietéticas hiperlipídicas também estimulam a neoglicogênese (Bizeau et al 2001; Commerford et al 2002), assim como o consumo intermitente crônico (Chakrabarty e Leveille, 1968). Outro ponto é que o uso da glicose pelo fígado de ratos alimentados por 4 semanas com dieta hiperlipídica é diminuído, demonstrado com menores atividades do complexo da piruvato desidrogenase (EC. 1.2.4.1), sendo os lipídios o principal substrato energético hepático nestas condições (Bryson et al 1995), fato este também observado por Schindler e Felber (1986). A maior disponibilidade hepática de glicose oriunda destas duas respostas (maior neoglicogênese e menor utilização da glicose) garante substrato para a maior síntese de glicogênio no grupo HLG. O estudo de Koopmans et al (1998) com ratos demonstrou que 77% da glicose utilizada para a síntese de glicogênio hepático é exógena e 23% é endógena, vinda da neoglicogênese. Além disso, os autores também observaram que a hiperinsulinemia em longo prazo pode aumentar a síntese de glicogênio hepático mesmo frente a um já existente aumento nas concentrações de glicogênio.

Maiores taxas de neoglicogênese nos animais com dieta hiperlipídica (Bizeau et al 2001; Commerford et al 2002) também podem explicar a redução nas dimensões hepáticas observada nos grupos HLG e HLN. Uma hipótese para esta redução do tecido hepático seria a redução do conteúdo proteico do fígado em adaptação à dieta ingerida. Neste caso, o fígado poderia estar utilizando aminoácidos para prover substrato para a neoglicogênese. Assim, a grande quantidade de gordura contida na dieta hiperlipídica resultaria em menor aporte de carboidratos, sendo um estímulo para a neoglicogênese, e, nesta situação, a glicemia seria mantida através da utilização de aminoácidos na síntese de glicose pelo fígado, o que poderia levar a uma redução do conteúdo proteico do mesmo e diminuindo seu tamanho.

No grupo HLG, a glicemia após 4h de privação alimentar é a maior e a tolerância à glicose é a pior comparando-o com os demais três grupos experimentais. Utilizou-se apenas 4 horas de privação alimentar a fim de normatizar os resultados pós-prandiais e anular os efeitos agudos do jejum sobre os resultados e, frente a essa restrição, a glicemia do grupo HLG ainda é fisiológica, porém maior em relação aos demais grupos. Certamente as taxas de glicogenólise, neoglicogênese e de lipogênese não podem ser dissociadas das alterações nas taxas de secreção e de sensibilidade à insulina em resposta aos comportamentos alimentares induzidos nestes animais. No teste de tolerância oral à glicose vemos claramente o prejuízo decorrente do padrão *gorging* e da dieta hiperlipídica. Em relação à tolerância à glicose antes das intervenções dietéticas, observa-se a homogeneidade dos grupos; após 8 semanas das intervenções, os grupos controles apresentaram uma diminuição na área sob a curva, revelando menores valores glicêmicos durante todo o teste, talvez uma resposta adaptativa ao envelhecimento dos animais ou à limitação na oferta de alimento. No entanto, efetuando a comparação de diferenças entre as áreas finais entre os grupos controle *nibbling* com ingestão *ad libitum* (Francischi et al 2001a) e controle *nibbling* com ingestão pareada ao *gorging*, não foram observadas diferenças significativas, revelando então que a diminuição no consumo de ração em função da ingestão pareada não alterou a tolerância à glicose.

Assim sendo, seria esperado que os animais com dieta hiperlipídica, caso mantivessem normais suas tolerâncias à glicose com o decorrer da intervenção dietética, também apresentassem redução na área da curva glicêmica ao final da oitava semana. Essas áreas mantiveram-se iguais às da primeira semana, às custas de aumento nos valores das glicemias nos minutos 0 e 120 e diminuição aos 30 minutos para HLG; e aumento também aos 0 e 120 e reduções não significativas em 30 e 60 minutos para HLN em relação ao período inicial. Comparando-os com os grupos controle na semana 8, notaram-se aumentos importantes na área sob a curva, como nos minutos 60, 90 e 120, mais acentuados ainda em HLG, cuja glicemia aumentou também no minuto 0. De fato, a análise bifatorial pode resumir o ocorrido com o teste de tolerância oral à glicose ao utilizar a glicemia aos 120 minutos como parâmetro indicativo: prejuízo na tolerância em função da alimentação hiperlipídica e do padrão *gorging*. Quanto à insulinemia, não foram observadas alterações em resposta à ingestão hiperlipídica e ao consumo intermitente, sendo que os 4 grupos apresentaram as mesmas concentrações de insulina sérica, o mesmo valendo para o índice glicose/insulina.

A maioria dos trabalhos na literatura aponta que já se observou redução na ação insulínica sistêmica, muscular e em adipócitos em ratos alimentados com excesso de gordura (Grundleger e Thenen 1982; Miller et al 1985; Storlien et al 1986; Storlien et al 1996; Rocchini et al 1997; Han et al 1997; Wilkes et al 1998; Pagliassotti et al 1997; Pagliassotti et al 2000; Picard et al 2002; Chakley et al 2002). Apesar de bem menos estudadas, também já foram observadas alterações no pâncreas endócrino em consequência do consumo crônico de dietas hiperlipídicas, com prejuízo na produção e na secreção

de insulina pelas células-beta (Ruggeri 1999). O estudo *in vivo* da exposição aguda (90 minutos) e crônica (48 horas) a ácidos graxos livres na função da célula-beta e na homeostase da glicose em homens saudáveis (Carpentier et al 1999) revelou que ambas as exposições induzem à resistência à insulina, mas que a aguda exposição compensa a resistência por aumentar a secreção de insulina, porém cronicamente há prejuízo no *clearance* de insulina e a resistência torna-se ainda mais severa. A hipótese mais ressaltada considera a glicolipotoxicidade como causa do distúrbio na célula-beta (DeFronzo et al 1997). Além disso, a expressão de alguns genes também pode ser alterada pela crônica exposição aos ácidos graxos, causando *down-regulation* e diminuindo a secreção insulínica (DeFronzo 1997). O original trabalho de Rigalleau et al (2001) estudou o efeito dos lipídios na homeostase da glicose em homens normais através de *clamp* (com infusão de lipídios) moderadamente hiperglicêmico e hiperinsulinêmico para simular o estado metabólico pós-prandial. Os autores observaram que a infusão de lipídios garantiu maior insulinemia por diminuir o *clearance* da insulina, induziu menor captação de glicose muscular (o que seria responsável por diminuir a glicogênese muscular, resultado semelhante aos nossos) e maior produção endógena de glicose e maior liberação da mesma para circulação. A infusão de lipídios não prejudicou a captação de glicose no fígado, e provavelmente também não inibiu a síntese de glicogênio hepático. Essas respostas parecem estar ocorrendo com os animais sob dieta hiperlipídica *gorging*, que apresentaram elevada concentração de glicogênio hepático (provavelmente pelas maiores taxas de neoglicogênese e menor utilização da glicose como acima citado), baixa concentração de glicogênio muscular, maior glicemia e pior tolerância à glicose.

Muitos estudos tentaram identificar as causas das alterações na captação de glicose em função da alimentação hiperlipídica, no entanto ainda há muita controvérsia. Provavelmente o tipo de gordura ingerida pode influenciar a composição lipídica das membranas celulares, alterando a ~~sin~~nalização da insulina (Storlien et al 1996). Acredita-se também que haja redução nas atividades do transportador de glicose GLUT 4 em tecidos periféricos após a administração de dietas hiperlipídicas (Zierath et al 1997; Hansen et al 1998), apesar desta resposta ainda não ser consenso (Han et al 1997). Outra hipótese é quanto ao aumento de triacilgliceróis em tecidos musculares e/ou de ácidos graxos livres plasmáticos em consequência da crônica alimentação hiperlipídica, o que levaria ao aumento na oxidação de lipídios e conseqüente inibição da captação de glicose (Storlien et al 1991; Storlien et al 1993; Bryson et al 1995; Kim et al 1996; Pan et al 1997; Oakes et al 1997) pela interação no ciclo glicose-ácidos graxos livres, segundo o ciclo de Randle (Randle 1963) (o que teria como consequência crônica menor necessidade de glicose para o tecido muscular). Esse aumento no metabolismo oxidativo exige concentrações adequadas de intermediários do ciclo do ácido cítrico para a manutenção de sua atividade (Newsholme e Leech 1988), que podem ser gerados pela glicose ou por certos aminoácidos (Newsholme e Leech 1988; Lancha Jr 1993). A baixa oferta de carboidratos na dieta hiperlipídica (e também no consumo alimentar do tipo *gorging*) induz à não disponibilidade da glicose para atuar

também no metabolismo oxidativo, o que pode levar ao aumento na oxidação de aminoácidos, aumentando a transferência de seus grupamentos amínicos na via das hexosaminas. O resultado seria o aumento no metabolismo da glutamina e conseqüentemente de glicosamina-6-fosfato pela GFAT (glutamina:frutose-6-fosfato aminotransferase - EC. 2.6.1.16) (Lancha Jr. 1996; Lancha Jr. 1997; Lancha Jr. 2002), molécula que, segundo Traxinger e Marshall (1989), parece dessensibilizar o sistema de transporte de glicose, através de glicosilação, diminuindo a sensibilidade à insulina.

Nos últimos 3 anos novos paradigmas vêm sendo debatidos para explicar a relação entre a adiposidade e alterações metabólicas. Algumas teorias discutem o desenvolvimento inadequado do adipócito, incapaz de estocar toda a quantidade excedente de lipídios, que acaba se armazenando no fígado, músculo e ilhotas pancreáticas, sendo um mecanismo patofisiológico no desenvolvimento do diabetes tipo 2 (Ravussin et al 2002). Além disso, evidências do tecido adiposo agir como um “órgão endócrino”, secretando diversas proteínas tais como leptina, interleucinas, fator de necrose tumoral alfa, resistina, cada vez mais apontam para uma regulação hormonal do tecido adiposo no desenvolvimento da síndrome metabólica (Ravussin et al 2002).

Com relação à frequência de ingestão alimentar, curiosamente a maioria dos trabalhos que considera os padrões *nibbling* e *gorging* em animais observou melhor tolerância à glicose em função do comportamento *gorging* (Romson e Leveille 1974; Leveille e Chakrabarty 1968; Fabry e Tepperman 1970), apesar dos estudos em humanos serem mais claros sobre o prejuízo da alimentação intermitente neste importante parâmetro metabólico (Jenkins 1989; Jenkins 1992; Jenkins 1995; Wolever 1980). O trabalho recente de Diaz-Munoz (2000) observou maiores insulinemias nos animais com alimentação intermitente do que nos *nibbling*, mesmo sem o ajuste isocalórico entre eles. As explicações dos autores para a melhora em animais *gorging* está na insulinemia: a maior concentração de insulina nos animais do tipo *gorging* e a maior sensibilidade do tecido adiposo a esta, mesmo em função da maior absorção intestinal de glicose, garantem melhor tolerância à glicose e maior susceptibilidade a lipogênese nestes animais (Romsos e Leveille 1974). Nosso trabalho originalmente revela que após oito semanas de alimentação esporádica há prejuízos na tolerância à glicose. Essa discrepância dos nossos dados com relação à maioria dos trabalhos da literatura que apontam melhora na tolerância à glicose em animais *gorging* pode residir no fato de a síndrome metabólica ser tempo dependente, já que cronicamente a resistência à insulina e estas altas concentrações insulinêmicas podem levar à falência das células-beta e agravar ainda mais o quadro de resistência à insulina, por mecanismo de *down-regulation* do receptor de insulina (DeFronzo, 1997). Como exemplo deste curto tempo, o estudo de Romsos e Leveille, (1974) realiza a intervenção dietética por 30 dias, e o de Leveille e Crakrabarty (1968) por apenas 3 semanas. O trabalho de Curi e Hell (1986), comparando as adaptações metabólicas entre ratos *gorging* e *nibbling* após 4 semanas e após 20 semanas dos comportamentos alimentares, revelou que após 4 semanas a

glicemia entre os grupos ainda não foi estatisticamente diferente, porém após 20 semanas de consumo intermitente, os animais *gorging* apresentam glicemia de jejum 26,7% maior.

A própria revisão de Fabry e Tepperman, em 1970, considera que estas mudanças adaptativas à alimentação esporádica do pâncreas endócrino, do tecido adiposo, muscular e fígado para melhor absorverem e estocarem tanto a glicose como os lipídios ingeridos podem se tornar patogênicas sob certas circunstâncias. Considerando as fases de desenvolvimento do diabetes mellitus ou mesmo da intolerância à glicose, parece que estes animais *gorging* dos estudos citados ainda estão no estágio inicial, e estudos mais prolongados podem observar o início da intolerância à glicose que verificamos em nossos experimentos e no estudo de Curi e Hell (1986). De fato, o original estudo de Santos et al (1989) sobre as respostas do pâncreas endócrino em função de diferentes comportamentos alimentares revelou que a baixa frequência de ingestão alimentar prejudica a função normal das células-beta, predispondo o indivíduo ao diabetes mellitus. Ratos foram divididos em 3 grupos: *nibbling* (com acesso às suas dietas *ad libitum*), *gorging* crônico (permanecendo em jejum 22h/dia e alimentados 2h/dia, durante 4 semanas) e *gorging* agudo (em jejum apenas nas 22 horas que antecederam os experimentos) e foram avaliadas as secreções insulínicas, fluxos de cálcio marcado e taxas de oxidação de glicose marcada com carbono 14 em ilhotas de Langerhans. A secreção de insulina quando expostos à mesma sobrecarga de glicose foi menor nos animais *gorging*, principalmente nos animais *gorging* crônico; foi observada menor descarboxilação de glicose nos animais *gorging*, indicando um prejuízo no metabolismo de glicose em função do jejum. Tendo em vista que a secreção de insulina pelo secretagogo leucina também esteve prejudicada nos animais *gorging*, os autores concluíram que as células-beta também estavam com desvios no metabolismo oxidativo, com prejuízos intracelular e bioquímico. Como era de se esperar frente a estes resultados, o efluxo de cálcio também esteve diminuído nos animais do tipo *gorging*. Esse prejuízo no funcionamento do pâncreas endócrino é um importantíssimo mecanismo fisiopatológico no desenvolvimento do diabetes mellitus tipo 2. Apesar de não fazer parte deste projeto, especulações acerca do funcionamento pancreático *in vitro* fornecem embasamento científico para melhor justificar os dados obtidos, já que não foram notadas diferenças nas concentrações insulinêmicas entre os grupos. Os resultados obtidos por Curi e Hell (1986) também não apresentaram diferenças na insulinemia de jejum após 4 ou 20 semanas de consumo alimentar intermitente, embora já ocorresse prejuízo na homeostase glicêmica. De fato, pode-se supor que animais *gorging* possuíram mesma quantidade de insulina para uma maior concentração de glicose circulante do que animais *nibbling*, um indicativo de que a secreção insulínica dos *gorging* pode estar prejudicada. Estudos que empreguem técnicas *in vivo* sobre a regulação da glicemia e da insulinemia, como nas investigações com *clamp*, são necessários para esclarecer as respostas periféricas e do pâncreas endócrino frente aos comportamentos alimentares estudados.

Por fim, analisando os parâmetros séricos, não foram observadas diferenças na colesterolemia, na trigliceridemia e no HDL-sérico, apesar das alterações observadas no acúmulo de gordura, talvez um indicativo de mudanças na atividade da lipoproteína lipase (EC. 3.1.1.34) do adipócito e do metabolismo lipídico. Nossa justificativa para a ausência de alterações é que estas, no desenvolvimento da síndrome metabólica, são conseqüências de crônica hiperinsulinemia, e geralmente se manifestam após a instalação da intolerância à glicose. Além disso, a espécie estudada pode não responder tão claramente às alterações no metabolismo lipídico, como discutido a seguir. No prazo estudado, não obtivemos resultados significativos do papel das intervenções dietéticas no perfil lipídico plasmático, mas talvez estudos mais prolongados observem tais alterações. Okey et al (1960) observou apenas pequenas alterações na colesterolemia de animais alimentados intermitentemente e com restrição alimentar, sendo que ratas alimentadas restritivamente 3 horas por dia apresentaram diminuição na colesterolemia, e ratas alimentadas por 2 períodos diários de 1 hora tiveram incremento neste parâmetro. O estudo de Juhel et al (2000) observou que em coelhos alimentados com dietas hiperlipídicas, o comportamento *gorging* favoreceu a deposição de ateroma, com menores taxas de remoção de lipoproteínas ricas em triacilgliceróis e colesterol, e redução nas taxas de secreção de sais biliares. Certamente, a espécie estudada favoreceu a obtenção de resultados significativos, já que o modelo experimental com coelhos é utilizado em estudos sobre lipídios plasmáticos pela capacidade destes animais em desenvolver ateroma quando alimentados com dieta ricas em gorduras. Outro ponto que justifica a ausência de diferenças nos parâmetros de dislipidemia foi o tempo de restrição alimentar anterior ao sacrifício aplicado em nosso estudo (4 horas), já que as principais diferenças nas respostas lipêmicas ocorrem no período pós-prandial: o estudo de Picard et al (2002) demonstrou pico na trigliceridemia pós-prandial 70% maior em ratos alimentados por 4 semanas com dieta hiperlipídica rica em sacarose do que em controles alimentados com ração comercial, apesar de a taxa de aparecimento de triacilgliceróis na circulação ser a mesma entre os 2 grupos. Os autores concluíram que a hipertrigliceridemia conseqüente do consumo hiperlipídico rico em sacarose foi devida ao prejuízo nas taxas de remoção dos triacilgliceróis, uma vez que os resultados demonstraram que a lipoproteína lipase (EC. 3.1.1.34) do tecido adiposo tornou-se resistente à insulina após intervenção alimentar rica em lipídios.

Em nossos dados, não puderam ser observadas sequer tendências quanto aos parâmetros de lipemia, enfatizando que a primordial influência das intervenções alimentares testadas foi sobre os desvios metabólicos dos carboidratos. Essa observação é muito próxima do interessante estudo de Barnard et al (1998) sobre efeitos da dieta hiperlipídica com açúcar refinado em aspectos da síndrome metabólica. Para isso, os autores compararam esta alimentação com a dieta controle (hipolipídica e rica em carboidratos complexos) em ratas fêmeas durante 2 semanas, 2 meses e 2 anos sobre o transporte muscular de glicose estimulado pela insulina, a insulinemia, pressão arterial, triacilglicerol e glicerol

séricos, peso corporal e gordura corporal. Os autores demonstraram que a resistência à insulina e a hiperinsulinemia ocorreram primeiramente, antes das outras manifestações da síndrome metabólica, e que a dieta, e não a obesidade, foi a primeira causa. Mais uma vez, foi ressaltada a influência da alimentação sobre a homeostase glicêmica.

Analisando agora os resultados da albuminemia como parâmetro clássico indicativo de estado nutricional, percebeu-se que a limitação na quantidade de alimentos ingeridos não comprometeu o estado nutricional dos animais. Todos os ratos individualmente apresentaram albuminas séricas superiores a 3,5 mg/dL (limite inferior indicativo de desnutrição) e não houve diferenças entre os grupos quanto ao conteúdo de proteínas nas carcaças. Não foram identificados estudos que avaliassem a albuminemia em relação à frequência de ingestão alimentar. Os animais com dieta hiperlipídica apresentaram maior albuminemia do que os com ração comercial, o que pode ser devido a dois motivos: primeiramente, ao valor biológico da dieta hiperlipídica por nós formulada, cuja fonte protéica é a caseína (de excelente valor biológico) e há complementação de vitaminas com a mistura vitamínica da *Rhoster* (Vargem Grande Paulista, SP); em segundo lugar, ao aumento na necessidade de transporte de ácidos graxos livres em resposta ao excesso de lipídios na dieta. Ácidos graxos são praticamente insolúveis no meio aquoso e a albumina desempenha importante função como transportadora destes na circulação sanguínea. O exercício físico implica em discretos aumentos na albuminemia (Fortney et al 1981; Hodgetts et al 1991) frente a maior demanda energética e à necessidade de mobilização de lipídios. Por outro lado, a maior capacidade de transporte de ácidos graxos não depende apenas da concentração de albumina sérica, mas também da capacidade de ligação desta proteína com os ácidos graxos: estudos comparativos sobre o potencial aeróbio de mamíferos revelaram que cães (animais com elevado potencial aeróbio) possuem semelhantes albuminemias que cabras (animais com baixo potencial aeróbio), devido à capacidade de ligação da albumina canina com os ácidos graxos ser 50% maior do que da albumina de cabras (McClelland et al 1994). Percebe-se assim que adaptações bioquímicas não relacionadas apenas com as concentrações de albumina, mas também com alterações funcionais na sua capacidade carreadora, são fundamentais na eficiência de mobilização dos lipídios. Até que ponto tais alterações ocorreram em resposta à dieta hiperlipídica aplicada não é possível afirmar.

Resumidamente, o presente trabalho norteia as diferenças no desenvolvimento de obesidade em função de quatro comportamentos alimentares (controle *gorging*, controle *nibbling*, hiperlipídica *gorging* e hiperlipídica *nibbling*) estudados cronicamente (8 semanas) e em quantidades isocalóricas. Há maior capacidade no armazenamento de gordura e prejuízos na tolerância à glicose em função do consumo hiperlipídico ou do padrão *gorging*. O padrão *gorging* garante maior eficiência no acúmulo de gorduras na dieta controle, porém não aumenta a já elevada eficiência da alta ingestão de gorduras no acúmulo de tecido adiposo. A associação da dieta hiperlipídica à baixa frequência de ingestão alimentar

induziu a prejuízos importantes na tolerância à glicose, característicos do desenvolvimento da síndrome metabólica, porém ainda sem alterações no perfil lipídico plasmático. Estudos futuros, como por exemplo os específicos sobre as alterações na sensibilidade periférica à insulina e sobre o funcionamento pancreático serão importantes para melhor caracterizar a evolução da síndrome metabólica em resposta a estes comportamentos alimentares.

5) Conclusões

Foram observadas importantes diferenças no desenvolvimento de obesidade e no prejuízo na tolerância à glicose em função de comportamentos alimentares crônicos, que associaram dieta hiperlipídica ou controle à baixa frequência de ingestão alimentar (*gorging*) ou à alimentação fracionada (*nibbling*), ajustados quanto à quantidade calórica:

- O consumo hiperlipídico resultou em maior adiposidade corporal;
- Em animais com dieta controle, o padrão *gorging* causou maior eficiência no acúmulo de gorduras do que o *nibbling*;
- Em animais com dieta hiperlipídica, os padrões *gorging* e *nibbling* resultaram semelhantes acúmulos de gorduras corporais, demonstrando que o consumo intermitente não aumentou a já elevada eficiência da alta ingestão de lipídios no acúmulo de tecido adiposo;
- A associação da dieta hiperlipídica à baixa frequência de ingestão alimentar induziu a prejuízos na tolerância à glicose. A maior concentração hepática de glicogênio, maior glicemia após 4h de privação alimentar e menor glicogênio muscular indicam prejuízo na homeostase glicêmica exacerbada por esta combinação dietética.
- Estudos futuros, como por exemplo os específicos sobre as alterações na sensibilidade periférica à insulina e sobre o funcionamento pancreático serão importantes para melhor caracterizar a evolução da síndrome metabólica em resposta a estes comportamentos alimentares.

Referências Bibliográficas

- ADA-AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Annual report [on line], 1999. [citado em 05/08/99]. Disponível no endereço: <<http://www.diabetes.org/annualreport/TOC.asp>>
- ADA-AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Report of the Expert Committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus, Diabetes care, 20: 1183-97, 1997.
- ADIBI, S.A. Influence of dietary deprivations on plasma concentration of free amino acids of man. J. Appl. Physiol., 25: 52-7, 1968.
- AINSLIE, D.A.; PROIETTO, J.; FAM, B.C.; THORBURN, A.W. Short-term, high-fat diets lower circulating leptin concentrations in rats. Am. J. Clin. Nutr., 71: 438-42, 2000.
- ALEE, G.L.; ROMSOS, D.R.; LEVEILLE, G.A.; BAKER, D.H. metabolic adaptation induced by meal-eating in the pig. J. Nutr., 102: 1115-22, 1972.
- ANÇÃO MS, CUPPARI L, TUDISCO ES, DRAIBE SA, SIGULEM D. Nutri Versão 2.5: Programa de Apoio à Nutrição (software). CIS/EPM - UNIFESP - Centro de Informática em Saúde - Escola Paulista de Medicina/Universidade Federal de São Paulo. São Paulo, Brasil, 1999.
- ARMSTRONG, M.K.; ROMSOS, D.R.; LEVEILLE, G.A. Time sequence of lipogenic changes in adipose tissue of rats when converted from ad libitum feeding to meal-eating. J. Nutr., 196: 884-91, 1976.
- ARNOLD, L.M.; BALL, M.; DUNCAN, A.W.; MANN, J. Effect of isoenergetic intake of three or nine meals on plasma lipoproteins and glucose metabolism. Am. J. Clin. Nutr., 57: 446-51, 1993.
- ARNOLD, L.; BALL, M.; MANN, J. Metabolic effects of alterations in meal frequency in hypercholesterolaemic individuals. Atherosclerosis, 108: 167-174, 1994.
- AUSTRUP, A. Dietary fat and obesity – Does quantity matter? Scand. J. Nutrition, 43 (supplement 34): 28S, 1999.
- BAKER, N.; PALMIQUIST, D.L.; LEARN, D.B. Equally rapid activation of lipogenesis in nibbling and gorging mice. J. Lipid Res., 17: 527-35, 1976.
- BARNARD, R.J.; ROBERTS, C.K.; VARON, S.M.; BERGER, J.J. Diet-induced insulin resistance precedes other aspects of the metabolic syndrome. J. Appl. Physiol., 84: 1311-15, 1998.
- BARRACHINA, M.D.; MARTÍNEZ, V.; WANG, L.; WEY, J.Y.; TACHÉ, Y. Synergistic interaction between leptin and cholecystokinin to reduce short-term food intake in lean mice. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 94: 10455-60, 1997.
- BARTNESS, T.J.; YOUNGSTROM, T.G. Sympathetic nervous system (SNS) denervation of white adipose tissue (WAT): effect on mass and cellularity. FASEB J., 11: A208, 1997.
- BARTNESS, T.J.; BAMSHAD, M. Innervation of mammalian White adipose tissue: implications for the regulation of total body fat. Am. J. Physiol. Regulatory Integrative Comp. Physiol., 275: R1399-R1411, 1998.
- BATSAKIS, J.G. ARONSOHN, R.S.; WALKER, W.A.; BARNES, B. Serum albumin. A CAP survey. Am J Clin Pathol, 66: 238-43, 1976.
- BELDA, M.C.R.; ZUCAS, S.M.; CURY, P.R. Efeito da frequência da ingestão de alimentos e do exercício físico sobre o crescimento de ratos. Rev. Cienc. Farm. 8/9: 25-49, 1987a.

- BELDA, M.C.R.; ZUCAS, S.M.; CURY, P.R. Efeitos da frequência da ingestão de alimentos e do exercício físico sobre a composição corporal: níveis de lipídeos e proteínas nas carcaças de ratos. Rev. Cienc. Farm. 8/9: 183-97, 1987b.
- BELLISLE, F.; McDEVITT, R.; PRENTICE, A.M. Meal frequency and energy balance. Br. J. Nutr., 77 (supplement 1): S57-S70, 1997.
- BERGSTROM, J.; HERMANSEN, L.; HULTMAN, E.; SALTIN, B. Diet, muscle glycogen and physical performance. Acta. Physiol. Scand., 71: 140-50, 1967.
- BERTELSEN, J.; CHRISTIANSEN, C.; THOMSEN, C.; POULSEN, P.L.; VESTERGAARD, S.; STEINOV, A. et al. Effect of meal frequency on blood glucose, insulin, and free fat acids in NIDDM subjects. Diabetes Care, 16: 4-7, 1993.
- BIZEAU, M.E.; SHORT, C.; THRESHER, J.S.; COMMERFORD, S.R.; WILLIS, W.T.; PAGLIASSOTTI, M.J. Increased pyruvate flux capacities account for diet-induced increases in gluconeogenesis in vitro. Am. J. Physiol., 281: R427-33, 2001.
- BJÖRNTORP, P.; YANG, M.; GREENWOOD, M.R.C. Am. J. Clin. Nutr. 37: 396-402, 1983
- BJÖRNTORP, P. The metabolic syndrome-a neuroendocrine disorder? In: Diet and the metabolic syndrome – International Symposium; 1999 Aug 26-28; Ystad (Sweden). Ystad: Swedish Nutrition Foundation; 1999, p. 26.
- BLAIR, S.N.; HORTON, E.; LEON, A.S.; LEE, I-MIN; DRINKWATER, B.L.; DISHMAN, R.K. et al. Physical activity, nutrition and chronic disease. Med. Sci. Sports Exerc., 28: 335-49, 1996.
- BNF – BRITISH NUTRITION FOUNDATION. Eating in the early 1980s. Attitudes and behaviour: main findings. London, British Nutrition Foundation, 1984.
- BODEN, G.; CHEN, X. Effects of fat on glucose uptake and utilization in patients with non-insulin-dependent diabetes. J. Clin. Invest., 96: 1261-8, 1995.
- BRAUN, T.; KAZDOVA, L.; FABRY, P. The effect of fasting, refeeding and meal eating on the ribonucleic acid content of adipose tissue in the rat. Experientia, 22: 161-2, 1966.
- BRAY, G.A. Lipogenesis in human adipose tissue: some effects of nibbling and gorging. J. Clin. Invest., 51: 537-48, 1972.
- BRYSON, J.M.; COONEY, G.J.; WENSLEY, V.R.; PHUYAL, J.L.; HEW, M.; DENYER, G.S.; CATERSON, I.D. High-fat feeding alters the response of rat PDH complex to acute changes in glucose and insulin. Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab., 268: E752-7, 1995.
- CAREY, D. G.; JENKINS, A. B.; CAMPBELL, L. V.; FREUND, J.; CHISHOLM, D. J. Abdominal fat and insulin resistance in normal and overweight women; direct measurements reveal a strong relationship on subjects at both low and high risk for NIDDM. Diabetes, 45: 633-638, 1996.
- CARPENTIER, A.; MITTELMAN, S.D.; LAMARCHE, B.; BERGMAN, R.N.; GIACCA, A.; LEWIS, G.F. Acute enhancement of insulin secretion by FFA in humans is lost with prolonged FFA elevation. Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab., 276: E1055-66, 1999.
- CARTER, PM; SLATER, L; LEE, J. PERRY, D.; HOBBS, J.R. Protein analyses in myelomatosis. J. Clin. Pathol. Suppl. (Assoc Clin Pathol), 6: 45-53, 1975.
- CHAKLEY, S.M.; HETTIARACHCHI, M.; CHISHOLM, D.J.; KRAEGEN, E.W. Long-term high-fat feeding leads to severe insulin resistance but not diabetes in Wistar rats. Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab., 282: E1231-8, 2002.
- CHEN, X.; IQBAL, N.; BODEN, G. The effects of free fatty acids on gluconeogenesis and glycogenolysis in normal subjects. J. Clin. Invest., 103: 365-72, 1999.

- CHIVA, M. Cultural aspects of meals and meal frequency. Br. J. Nutr., 77 (supplement 1): S21-S28, 1997.
- CHAKRABARTY, K.; LEVEILLE, G.A. Influence of periodicity of eating on the activity of various enzymes in adipose tissue, liver and muscle of the rat. J. Nutr., 96: 76-82, 1968.
- CONH, C.; SHRAGO, E.; JOSEPH, D. Effect of food administration on weight gains and body composition of normal and adrenalectomized rats. Am. J. Physiol., 180: 503-1955.
- COHN, C.; ALLWEISS, M.D. fats, rats chickens and men – results of feeding frequency, Am. J. Clin. Nutr., 12: 255, 1963.
- COHN, C.; JOSEPH, D. effect on metabolism produced by the rate of ingestion of the diet: “meal-eating” vs. *nibbling*. Am. J. Clin. Nutr., 8: 682-90, 1960a.
- COHN, C.; JOSEPH, D. Role of rate of ingestion of diet on regulation of intermediary metabolism (“meal-eating” vs. *nibbling*). Metabolism, 9: 492-99, 1960b.
- COHN, C.; JOSEPH, D.; ALLWEISS, D. Nutritional effects of feeding frequency. Am. J. Clin. Nutr., 11: 356-61, 1962.
- COMMERFORD, S.R.; FERNIZA, J.F.; BIZEAU, M.E.; THRESHER, J.S.; WILLIS, W.T.; MICHAEL J. PAGLIASSOTTI, M.J. Diets enriched in sucrose or fat increase gluconeogenesis and G-6-Pase but not basal glucose production in rats. Am. J. Physiol., 283: E545-55, 2002.
- COOLING, J.; BLUNDELL, J. Differences in energy expenditure and substrate oxidation between high fat and low fat consumers (phenotypes). Int. J. Obes., 22: 612-8, 1998.
- CORBETT, S.W.; STERN, J.S.; KEESEY, R.E. Am. J. Clin. Nutr., 44: 173-80, 1986.
- COVIÁN, F.G. La carne en la alimentacion humana. In: Jornadas Cientificas sobre Nutricion y Salud Humana. Madrid, Ministerio de Sanidad y Consumo, 1990, p.239-252.
- CURI, R.; CARPINELLI, A.R.; MALAISSE, W.J. Hexose metabolism in pancreatic islets: pyruvate carboxylase activity. Biochimie, 73: 583-86, 1991.
- CURI, R.; HELL, S. Metabolic changes of twenty weeks food-restriction schedule in rats. Physiol. Behav., 36: 239-43, 1986.
- CURI, R.; HELL, N.S.; TIMO-IARIA, C. Meal-feeding and physical effort.1. Metabolic changes induced by exercise training. Physiol.Behav., 47: 1-5, 1990.
- DALOSSO, H.M.; NURGATROYD, P.R.; JAMES, W.P.T. Feeding frequency and energy balance in adult males. Human Nutrition: Clinical Nutrition, 36c: 25-39, 1982.
- DALVIT, S.P. The effect of the menstrual cycle on patterns of food intake. Am. J. Clin. Nutr., 34: 1811-5, 1981.
- De BONT, A.J.; ROMSOS, D.R.; TSAI, A.C.; WATERMAN, R.A.; LEVEILLE, G.A. Influence of alterations in meal frequency on lipogenesis and body fat content in the rat. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 149: 849-54, 1975.
- De CASTRO, J.M. Weekly rhythms of spontaneous nutrient intake and meal pattern of humans. Physiol. Behav., 50: 729-38, 1991.
- De CASTRO, J.M. Socio-cultural determinants of meal size and frequency. Br. J. Nutr., 77 (supplement 1): S39-S55, 1997.
- DEFRONZO, R. A.; FERRANNINI, E. Insulin resistance: a multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia, and atherosclerotic cardiovascular disease. Diabetes care, 14: 173-94, 1991.

- DEFRONZO, R. Pathogenesis of type 2 diabetes: metabolic and molecular implications for identifying diabetes genes. Diabetes Rev., 5: 177-267, 1997.
- DENGEL, D. R.; HAGBERG, J. M.; PRATLEY, R. E.; ROGUS, E. M.; GOLDBERG, A. P. Improvements in blood pressure, glucose metabolism, and lipoprotein lipids after aerobic exercise plus weight loss in obese, hypertensive middle-aged men. Metabolism, 47: 1075-1082, 1998.
- DIAS-MUNOZ, M.; VASQUEZ-MARTINEZ, O.; AGUILAR-ROBLERO, R.; ESCOBAR, C. Anticipatory changes in liver metabolism and entrainment of insulin, glucagon and corticosterone in food-restricted rats. Am. J. Physiol. Regulatory Integrative Comp. Physiol., 279: R2048-56, 2000.
- DIGIROLAMO, M.; FINE, J.B.; TAGRA, K.; ROSSMANITH, R. Qualitative regional differences in adipose tissue growth and cellularity in male Wistar rats fed ad libitum. Am. J. Physiol. Regulatory Integrative Comp. Physiol., 274: R1460-7, 1998.
- DI PASQUALE, M.G. Amino acids and proteins for the athlete – the anabolic age. Boca raton, CRC Press LLC, 1997.
- EDELSTEIN, S.L.; BARRETT-CONNOR, E.L.; WINGARD, D.L.; COHN, B.A. Increased meal frequency associated with decreased cholesterol concentration; Rancho Bernardo, CA, 1984-1987. Am. J. Clin. Nutr., 55: 664-9, 1992.
- ELLIS, A. Increased carbohydrate tolerance in diabetes following hourly administration of glucose and insulin over long periods. Quart. J. Med., 27: 137-53, 1934.
- EMOND, M.; SCHAWARTZ, G.J.; LADENHEIM, E.E.; MORAN, T.H. Central leptin modulates behavioral and neural responsivity to CCK. Am. J. Physiol., 276 (5 Pt 2): R1545-9, 1999.
- ERIKSSON, J.; FRANSSILA-KALLUNKI, A.; EKSTRAND, A. et al. Early metabolic defects in persons at increased risk for non-insulin-dependent diabetes mellitus. N. Engl. J. Med., 321: 337-43, 1989.
- FABRY, P.; PETRÁSEK, R.; HORAKOVA, E.; KONOPASEK, E.; BRAUN, T. Energy metabolism and growth in rats adapted to intermittent starvation. Brit. J. Nutr., 17: 295-301, 1963.
- FABRY, P.; HEJL, Z.; FODOR, J.; BRAUN, T. The frequency of meals – its relation to overweight, hypercholesterolemia, and decrease glucose tolerance. Lancet, 19: 614-5, 1964.
- FABRY, P.; BRAUN, T. Adaptation to the pattern of food intake: some mechanisms and consequences. Proc. Nutr. Soc., 26: 143-53, 1967.
- FABRY, P.; TEPPERMAN, J. Meal frequency – a possible factor in human pathology. Am. J. Clin. Nutr., 23: 1059-68, 1970.
- FELBER, J.P.; GOLAY, A. Regulation of nutrient metabolism and energy expenditure. Metabolism, 44 (suppl. 2): 4-9, 1995.
- FELIG, P. Amino acid metabolism in man. Ann. Rev. Biochem., 44: 933-55, 1975.
- FELIG, P.; MARLISS, E.; CAHILL, G.F. Plasma amino acid levels and insulin secretion in obesity. N. Engl. J. Med., 15: 811-6, 1969.
- FINLEY, P. R.; SCHIFMAN, R. B.; WILLIAMS, R. J.; LICHTI, D. A. Cholesterol in high - density lipoprotein: use of Mg²⁺/dextran sulfate in its enzymic measurement. Clin. Chem., 24: 931-3, 1978.
- FLATT, J. P. Dietary fat, carbohydrate balance, and weight maintenance: effects of exercise. . Am. J. Clin. Nutr., 45: 296-306, 1987.
- FLATT, J.P. Use and storage of carbohydrate and fat. Am. J. Clin. Nutr., 61: 952S-9S, 1995.

- FORLANI, G.; VANNINI, P.; MARCHESINI, G.; ZOLI, M.; CIAVARELLA, A.; PISI, E. Insulin-dependent metabolism of branched-chain amino acids in obesity. Metabolism, **33**: 147-150, 1984.
- FORTNEY, S.M.; NADEL, E.R.; WENGER, C.B.; BOVE, J.R. Effect of blood volume on sweating rate and body fluids in exercising humans. J. Appl. Physiol., **51**: 1594-600, 1981.
- FRANCISCHI, R. P., OUENDO, L., CAMPOS, P.L., FUTIGAMI, S., NETO, S.R.C., LANCH JR, A.H. Physical activity and nutritional control features an treatment of obesity in Brazilian women. In: 10 th International Conference of Biochemistry of exercise, Sydney, 1997. Poster Abstracts, p. 40.
- FRANCISCHI, R. P.; KLOPPER, M.; PEREIRA, L.O.; CAMPOS, P.L.; SAWADA, L. A.; SANTOS, R.; VIEIRA, P.; LANCH JR, A. H. Efeito da intensidade da atividade física e da dieta hipocalórica sobre consumo alimentar, a composição corporal e a colesterolemia em mulheres obesas. Rev. Bras. Nutr. Clin., **14**: 1-8, 1999a.
- FRANCISCHI, R. P.; SANTOS, R.C.; VIEIRA, P.; FREITAS, C.S.; KLOPPER, M. PEREIRA, L.O.; SAWADA, L.A.; CAMPOS, P.L.; LANCH JR., A. H. Effects of exercise on dietary composition, metabolism and body composition of Brazilian obese women. Scand. J. Nutrition, **43** (supplement 34): 40S [Oral Presentation], 1999b.
- FRANCISCHI R. P., PEREIRA LO, FREITAS CS, KLOPPER M, SANTOS RC, VIERA P, LANCH JR. AH. Obesidade: atualização sobre sua etiologia, morbidade e tratamento. Revista de Nutrição da PUCCAMP, **13**: 17-28, 2000.
- FRANCISCHI R. P., PEREIRA LO, CAMPOS PL, SAWADA L, COSTA AS, ROSCHEL HAS, MARQUEZI ML, SCAGLIUSI FB, PEREIRA PM, OLIVEIRA PV, FREITAS CS, LANCH JR. AH. Dietas hiperlipídicas e frequência alimentar: efeitos sobre as reservas lipídicas em ratos In: VI Congresso da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição (SBAN), Florianópolis, 2001a. Livro de resumos, p. 126.
- FRANCISCHI, R. P.; PEREIRA, L.O.; LANCH JR., A.H. Exercício, comportamento alimentar e obesidade: revisão dos efeitos sobre a composição corporal e parâmetros metabólicos. Rev. Paul. Educ. Fís., **15**: 117-40, 2001b.
- FRANZ, M.J.; HORTON, E.S.; BANTLE, J.P.; BEEBE, C.A.; BRUNZELL, J.D.; COULSTON, A.M. et al. Nutrition principles for the management of diabetes and related complications. Diabetes care, **17**: 490-518, 1994.
- FRAZE, E.; DONNER, C.C.; SWISLOCKI, A.L.M.; CHIOU, M.; CHEN, Y.D.I.; REAVEN, G.M. Ambient plasma free fatty acid concentration in noninsulin-dependent diabetes mellitus: evidence for insulin resistance. J. Clin. Endocrinol. Metab., **61**: 807-11, 1985.
- FRÜHBECK, G.; GÓMEZ-AMBROSI, J. Rationale for the existence of additional adipostatic hormones. FASEB J., **15**: 1996-2001, 2001.
- GATEMBY, S.J. Eating frequency: methodological and dietary aspects. Br. J. Nutr., **77** (supplement 1): S7-S20, 1997.
- GERBITK, K.; GEMPEL, K.; BRDICZKA, D. Mitochondria and diabetes: genetic, biochemical, and clinical implications of the cellular energy circuit. Diabetes, **45**: 113-26, 1996.
- GIANOTTI, M.; ROCA, P.; PALOU, A. Body weight and tissue composition in rats made obese by a cafeteria diet. Effect of 24 hour starvation. Horm. Metab. Res., **20**: 208-12, 1988.
- GIANOTTI, M.; ROCA, P.; PALOU, A. The effects of cafeteria diet induced obesity on rat blood amino acid compartmentation. Arch. Int. Physiol. Biochi., **98**: 155-61, 1990.

- GOLAY, A.; FELBER, J.P.; MEYER, H.U.; CURCHOD, B.; MAEDER, E.; JÉQUIER, E. Study on lipid metabolism in obesity diabetes. Metabolism, 33: 111-6, 1984.
- GOWER, B. A.; NAGY, T.R.; TROWBRIDGE, C.A.; DEZENBERG, C.; GORAN, M.I. Fat distribution and insulin response in prepubertal African American and white children. Am. J. Clin. Nutr., 67: 821-7, 1998.
- GRAAF, C.; HULSHOF, T.; WESTSTRATE, J.A.; JAS, P. Short-term effects of different amounts of protein, fats, and carbohydrate on satiety. Am. J. Clin. Nutr., 55: 33-8, 1992.
- GREENWOOD, M.R.C.; JOHNSON, P.R. The adipose tissue. In: Weiss, L.; Greep, R.O. Histology. 4a. ed., New York, McGraw Hill. 1977. p.179-204.
- GRUNDLEGER, M.L.; THENEN, S.W. Decreased insulin binding, glucose transport, and glucose metabolism in soleus muscle of rats fed a high fat diet. Diabetes, 31: 232-7, 1982.
- GRUNDY, S. M. Multifactorial causation of obesity: implications for prevention. Am. J. Clin. Nutr., 67: 563S- 72S, 1998.
- HAAPANEN, N.; MIILUNPALO, S.; OJA, P.; VUORI, I. Association between leisure time physical activity and 10-year body mass change among working-aged men and women. Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord., 21: 288-96, 1997
- HAN, D.; HANSEN, P.A.; HOST, H.H.; HOLLOSZY, J.O. Insulin resistance of muscle glucose transport in rats fed a high-fat diet: a reevaluation. Diabetes, 46: 1761-7, 1997.
- HANSEN, B.C. Obesity, diabetes, and insulin resistance: implications from molecular biology, epidemiology, and experimental studies in human and animals. Diabetes care, 18 (suppl. 2): A2-A9, 1995.
- HANSEN, P.A.; GULVE, E.A.; HOLLOSZY, J.O. Suitability of 2-deoxyglucose for in vitro measurement of glucose transport activity in skeletal muscle. J. Appl. Physiol., 76: 979-85, 1994.
- HANSEN, P.A.; HAN, D.H.; MARSHALL, B.A.; NOLTE, L.A.; CHEN, M.M.; MUECKLER, M.; HOLLOSZY, J.O. A high fat diet impairs stimulation of glucose transport in muscle. J. Biol. Chem., 273: 26157-63, 1998.
- HÄRING, H.U. The insulin receptor: signalling mechanism and contribution to the pathogenesis of insulin resistance. Diabetologia, 34: 848-861, 1991.
- HASSID, W.Z.; ABRAHAMS, S. Chemical procedures for analyses of polisaccharides. Methods Enzimol., 3: 34-51, 1957.
- HAUNER, H. Abdominal obesity and coronary heart disease: pathophysiology and clinical significance. Herz., 20: 47-55, 1995.
- HERMANSEN, L.; HULTMAN, E.; SALTIN, B. Muscle glycogen during prolonged severe exercise. Acta. Physiol. Scand., 71: 129-39, 1967.
- HIGUERAS, J.M.; ARIAS, J.M.; MATAIX, F.J.; MONTELLANO, M.A.; LLOPIS, J. Plasma lipid composition in na elderly population: correlation with dietary fat. Int. J. Vitam. Nutr. Res., 62: 261-5, 1992.
- HILL, J.O.; ANDERSEN, J.C.; LIN, D.; YAKUBU, F. Effects of meal frequency on energy utilization in rats. Am. J. Physiol., 255 (4 Pt 2): R616-21, 1988.
- HILL, J.O.; PETERS, J.C. Environmental contributions to the obesity epidemic. Science, 280: 1371-4, 1998.

- HODGETTS, V.; COPPACK, K.N.; FRAYN, K.N.; HOCKADAY, T.D. Factors controlling fat mobilization from human subcutaneous adipose tissue during exercise. J. Appl. Physiol., 71: 445-51, 1991.
- HOLLIFIELD, G.; PARSON, W. metabolic adaptations to a "stuff and starve" feeding program. I. Studies of adipose tissue and liver glycogen in rats limited to a short daily feeding period. J. Clin. Invest., 41: 245-49, 1962.
- HOLMAN, G.D.; KOZKA, I.J.; CLARK A.E.; FLOWER, C.J.; SAITIS, J.; HABBERFIELD, A.D. et al. Cell surface labeling of glucose transporter, isoform GLUT4 by Bismannose Photolabel. J. Biol. Chem., 265: 18172-18179, 1990.
- HUNNICUTT, J.W.; HARDY, R.W.; WILLIFORD, J.; McDONALD, J.M. saturated fatty acid-induced insulin resistance in rat adipocytes. Diabetes, 43: 540-5, 1994.
- ISHIDA, K.; MIZUNO, A.; MURAKAMI, T.; SHIMA, K. Obesity is necessary but not sufficient for the development of diabetes mellitus. Metabolism, 45: 1288-95, 1996.
- JACOB, S.; MACHANN, J.; RETT, K.; BRECHTEL, K.; VOLK, A.; RENN, W.; MAERKER, E.; MATTHAEI, S.; SCHICK, F.; CLAUSSEN, C.; HÄRING, H. Association of increased intramyocellular lipid content with insulin resistance in lean nondiabetic offspring of type 2 diabetic subjects. Diabetes, 48: 1113-9, 1999.
- JEBB, S. A. Aetiology of obesity. Br. Med. Bull., 53: 264-85, 1997.
- JEBB, S.A. Obesity: from molecules to man. Proc. Nutr. Soc., 58: 1-14, 1999.
- JENKINS, D.J.A.; WOLEVER, T.M.S.; VUKSAN, V.; BRIGHENTI, F.; CUNNANE, S.C.; VENKETESHWER, A. et al. Nibbling versus gorging: metabolic advantages of increased meal frequency. N. Engl. J. Med., 321: 929-34, 1989.
- JENKINS, D.J.A.; OCANA, A.; JENKINS, A.L.; WOLEVER, T.M.S.; VUKSAN, V.; KATZMAN, L. et al. Metabolic advantages of spreading the nutrient load: effects of increased meal frequency in non-insulin-dependent diabetes. Am. J. Clin. Nutr., 55: 461-7, 1992.
- JENKINS, D.J.A.; KHAN, A.; JENKINS, A.L.; ILLINGWORTH, R.; PAPPU, A.S.; WOLEVER, T.M.S. et al. Effect of nibbling versus gorging on cardiovascular risk factors: serum uric acid and blood lipids. Metabolism, 44: 549-55, 1995.
- JENKINS, D.J.A. carbohydrate tolerance and food frequency. Br. J. Nutr., 77 (supplement 1): S71-S81, 1997.
- JUNG, R. Obesity as a disease. Br. Med. Bull., 53: 307-21, 1997.
- JUWEL, C.; PAFUMI, Y.; SENFT, M.; LAFONT, H.; LAIRON, D. Chronically gorging v. nibbling fat and cholesterol increases postprandial lipaemia and atheroma deposition in the New Zealand White rabbit. Brit. J. Nutr., 83: 549-59, 2000.
- KAPLAN, L.A.; PESCE, A.J. Clinical Chemistry-theory, analysis and correlation. 2a. ed. The CV Mosby Company, 1989.
- KAHN, B.B. facilitative glucose transporters: regulatory mechanisms and dysregulation in diabetes. J. Clin. Invest., 89: 1367-74, 1992.
- KAHN, B.B. Dietary regulation of glucose transporter gene expression: tissue specific effects in adipose cells and muscle. J. Nutr., 124: 1289S-95S, 1994.
- KERWICK, A.; PAWAN, G.L.S. The effect of feeding patterns on fat deposition in mice. Metabolism, 15: 173-80, 1966.

- KEYS, A.; ARAVANIS, C.; VAN BUCHEM, F.S.P.; BLACKBURN, H. BUZINA, R. DJORDJEVIC, B.S. et al. The diet and all-causes death rate in the seven country study. Lancet, 11: 58-61, 1981.
- KIM, J.K.; WI, J.K.; YOUN, J.H. metabolic impairment precedes insulin resistance in skeletal muscle during high-fat feeding in rats. Diabetes, 45: 651-8, 1996.
- KISSEBAH, A. H.; VYDELINGUM, N.; MURRAY, R.; EVANS, D. J.; HARTZ, A. J.; KALKHOFF, R. K.; ADAMS, P. W. Relation of body fat distribution to metabolic complications of obesity. J. Clin. Endocrinol. Metab., 54: 254-60, 1982.
- KNITTLE, L. Meal-eating versus nibbling: effect on human adipose tissue metabolism. Am. J. Clin. Nutr., 18: 310-11, 1966.
- KLOPFER, M.; FRANCISCHI, R.; CAMARGO, R.; VIEIRA, P.; OQUENDO, L.; FREITAS, C.S.; SAWADA, L.; CAMPOS, P.; LANCHÁ-Jr, A.H. Moderate energy restriction with or without aerobic exercise: a comparison of three methods. In: Diet and the metabolic syndrome – International Symposium; 1999 Aug 26-28; Ystad (Sweden). Ystad: Swedish Nutrition Foundation; 1999, p. 65.
- KONTUREK, P.C.; KONTUREC, S.J.; BRZOZOWSKI, T.; HAHN, E.G. Gastroprotection and control of food intake by leptin. Comparison with cholecystokinin and prostaglandins. J. Physiol. Pharmacol., 50: 39-48, 1999.
- KOOPMANS, S.J.; MANDARINO, L.; DEFRONZO, R.A. Time course of insulin action on tissue-specific intracellular glucose metabolism in normal rats. Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab., 274: E642-50, 1998.
- KRAEGEN, E.W.; CLARK, P.W.; JENKINS, A.B.; DALEY, E.A.; CHISHOLM, D.J.; STORLIEN, L.H. Development of muscle insulin resistance after liver insulin resistance in high-fat-fed rats. Diabetes, 40: 1397-403, 1991.
- KUKREJA, A.; MACLAREN, N. Autoimmunity and diabetes. J. Clin. Endocrinol. Metab., 84: 4371-8, 1999.
- LACHAPELLE, D.; GAMACHE, C.; BRODEUR, J.M.; SEVIGNY, J. [Frequency of food consumption in children. Weekdays versus weekends]. J. Can. Dent. Assoc., 55: 61-5, 1989.
- LANCHA-Jr, A.H. Papel da geração de oxaloacetato no exercício físico moderado em ratos: consequência da suplementação de aspartato e asparagina. São Paulo, 1993. [Tese de Doutorado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo].
- LANCHA-Jr., A.H. Atividade física, suplementação nutricional de aminoácidos e resistência periférica à insulina. Rev. Paul. Educ. Fís., 10: 68-75, 1996.
- LANCHA-Jr, A.H. Efeito da suplementação de aminoácidos (aspartato e asparagina) sobre o transporte de glicose em músculo esquelético de ratos. São Paulo, 1997. [Tese de Livre Docência- Escola de Educação Física e Esporte da USP].
- LANCHA-Jr., A.H. Proteína. In: Lancha Jr., A.H. Nutrição e metabolismo aplicado a atividade motora. São Paulo, Atheneu, 2002. p.13-35.
- LEV-RAN, A. Thrifty genotype: how applicable is it to obesity and type 2 diabetes? Diabetes Rev., 7: 1-18, 1999.
- LEVEILLE, G.A. Control of lipogenesis in adipose tissue of fasted and fed meal-eating rats. J. Nutr., 92: 460-66, 1967.
- LEVEILLE, G. A. Lipogenic adaptations related to pattern of food intake. Nutr. Rev., 30: 151-5, 1972.

- LEVEILLE, G.A.; CHAKRABARTY. Absorption and utilization of glucose by meal-fed and nibbling rats. J. Nutrition, 96: 69-75, 1968.
- LEVEILLE, G. A.; HANSON, R.W. Influence of periodicity of eating in the chicken. J. Physiol., 209: 153-7, 1965.
- LEVEILLE, G.A.; O'HEA, E.K. J. Nutrition, 93: 541, 1967.
- LICHTENSTEIN, A.H.; KENNEDY, E.; BARRIER, P.; DANFORD, D.; ERNST, N.D.; GRUNDY, S.M. et al. Dietary fat consumption and health. Nutr. Rev., 56 (5 Pt II): S3-28, 1998.
- LICHTMAN, S. W.; PIRARSKA, K.; BERMAN, E. R.; PESTONE, M.; DOWNLING, H.; OFFENBACHER, E.; WEISEL, H.; HESKA, S.; MATTHEWS, D. E.; HEYMSFIELD, S. B. Discrepancy between self-reported and actual caloric intake and exercise in obese subjects. N. Engl. J. Med., 327: 1893-8, 1992.
- LISSNER, L. Dietary fat and prevention of obesity. Scand. J. Nutrition, 43 (supplement 34): 18S, 1999.
- LONGNECKER, M.P.; HARPER, J.M.; KIM, S. Eating frequency in the nationwide food consumption survey (U.S.A.), 1987-1988. Appetite, 29: 55-9, 1997.
- LOWRY, O.H.; ROSEBROUGH, N.J.; FARR AL; RANDALL, R.J. Protein measurement with the folin phenol reagent. J Biol Chem., 193: 265 -275, 1951.
- MAFFEI, M.; HALASS, J.; RAVUSSIN, E. ; PRATLEY, R.E.; LEE, G.H.; ZHANG, Y. FEI, H.; KIM, S.; LALLONE, R.; RANGANATHAN, S. Leptin levels in human and rodent: measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight-reduced subjects. Nat Med, 1: 1155-61, 1995.
- MAHAN, L. K. & ESCOTT-STUMP, S. Krause: Alimentos, nutrição e dietoterapia; trad. A. Favano. 9a. ed. São Paulo, Roca, 1998.
- MAISEY, S.; LOUGHRIDGE, J.; SOUTRON, S.; FULCHER, R. Variation in food group and nutrient intake with day of the week in the elderly population. Br. J. Nutr., 73: 359-73, 1995.
- MANN, J. Meal frequency and plasma lipids and lipoproteins, Br. J. Nutr., 77 (supplement 1): S83-S90, 1997.
- MARSHALL, S.; GARVEY, W.T.; TRAXINGER, R.R. New insights into the metabolic regulation of insulin action and insulin resistance: role of glucose and amino acids. FASEB J., 5: 3031-6, 1991.
- MARSHALL, J.A.; HAMMAN, R.F.; BAXTER, J. High-fat, low-carbohydrate diet and the etiology of non-insulin-dependent diabetes mellitus: The San Luis Valley diabetes study. Am. J. Epidemiol., 134: 590-603, 1991.
- MATSON, C.A.; RITTER, R.C. Long-term CCK-leptin synergy suggests a role for CCK in the regulation of body weight. Am. J. Physiol., 276 (4Pt 2): R1038-45, 1999.
- MATTHEWS, J.N.S.; ALTMAN, D.G.; CAMPBELL, M.J.; ROYSTON, P. Analysis of serial measurements in medical research. Br. Med. J., 300: 230-5, 1990.
- MAYER, E.J.; WEISS, S.T.; TROISIR, CASSANO, P.A.; VOKONAS, P.S.; LANDSBERG, L. Usual dietary fat intake and insulin concentration in healthy women twins. Diabetes Care, 16: 1459-69, 1993.
- McARDLE, W. D.; KATCH, F. I.; KATCH, V. L. Fisiologia do Exercício: Energia, Nutrição e Desempenho Humano; trad. G. Taranto. 3a. ed. Rio de Janeiro, GuanabaraKoogan, 1992.
- McCLELLAND, G.; ZWINGELSTEIN, G.; TAYLOR, C.R.; WEBER, J.M. Increased capacity for circulatory fatty acid transport in highly aerobic mammal. Am. J. Physiol. 266 (Regulatory Comp. Physiol. 35): R1280-6, 1994.

- MELA, D.J.; AARON, J.I. Honest but invalid: consumer viws on recording their food intake. Proc. Nutr. Soc., 56: 53A, 1997.
- MELBY, C. L.; COMMERFORD, S. R. ; HILL, J. O. Exercise, macronutrient balance, and weight control. In: Lamb, D. R. & Murray, R. Perspectives in Exercise Science and Sports Medicine volume 11: Exercise, Nutrition, and Weight Control. Carmel, Cooper Publishing Group, 1998. p. 1-60.
- METZNER, H.L.; LAMPHEAR, D.E.; WHEELER, N.C.; LARKIN, F.A. The relationship between frequency of eating and adiposity in adult men and women in the Tecumseh Community Health Study. Am. J. Clin. Nutr., 30: 712-15, 1977.
- MILLER, G.D.; HRUPKA, B.J.; GIETZEN, D.W.; ROGERS, Q.R.; STERN, J.S. Rats on a macronutrient self-selection diet eat more meals from a single food cup. Appetite, 23: 67-78, 1994.
- MILLER, W.J.; SHERMAN, W.M.; DODD, H.; IVY, J.L. Influence of dietary carbohydrate on skeletal muscle glucose uptake. Am. J. Clin. Nutr., 41: 526-32, 1985.
- MONTEIRO, C. A.; MONDINI, L.; SOUZA, A. L. M.; POPKIN, B. M. The nutrition transition in Brazil. Eur. J. Clin. Nutr., 49: 105-13, 1995a.
- MONTEIRO, C. A.; MONDINI, L.; SOUZA, A. L. M.; POPKIN, B. M. Da desnutrição para a obesidade: a transição nutricional no Brasil. In: Monteiro, C. A.: Velhos e novos males da saúde no Brasil – a evolução do país e de suas doenças. São Paulo, Hcitech-NUPENS/USP, 1995b. p. 247-55.
- MONTEIRO, C.A.; CONDE, W.L. A tendência secular da obesidade segundo estratos sociais: nordeste e sudeste do Brasil, 1975-1989-1997. Arq. Bras. Endocrinol. Metab., 43: 186-194, 1999.
- MUIURI, KL; ROMSOS, D.R.; LEVEILLE, G.A. Influence of meal frequency on in vivo hepatic fatty acid synthesis, lipogenic enzyme activity and glucose tolerance in the chicken. J. Nutr., 105: 963-71, 1975.
- NEWSHOLME, E.A.; LEECH, A.R. Biochemistry for the medical sciences. New York, John Willey, 1988.
- NRC/RDA - National Research Council: Recommended Dietary Allowances. 10th ed. Washington, DC, National Academy Press, 1989.
- NUNES, W.T; CANHAM, J.E. The effects of varied periodicity of eating on serum lipids and carbohydrate tolerance in man. Am. J. Clin. Nutr., 12: 334, 1963.
- NUTRIENT CONTENT of the US FOOD SUPPLY. HNIS Adm, Report No. 299-21. Washington, Human Nutrition Service, USA, 1988.
- OAKES, N.D; COONEY, G.J.; CAMILLERI, S.; CHISHOLM, D.J.; KRAEGEN, E.W. Mechanisms of liver and muscle insulin resistance induced by chronic high-fat feeding. Diabetes, 46: 1768-74, 1997.
- OLEFSKY, J.M.; NOLAN, J.J. Insulin resistance and non-insulin-dependent diabetes mellitus: cellular and molecular mechanisms. Am. J. Clin. Nutr., 61 (suppl): 980S-6S, 1995.
- OLIVEIRA, J.E.; MILECH, A.; FRANCO, L.J. The prevalence of diabetes in Rio de Janeiro, Brazil. Diabetes Care, 19: 663, 1996.
- OKEY, R.; SCHEIER, G.; REED, M. Food restriction and cholesterol metabolism. J. Am. Diet. Assoc., 36: 441-4, 1960.
- OZELCI, A.; ROMSOS, D.R.; LEVEILLE, G.A. Influence of diet composition on nitrogen balance and body composition in meal-eating and nibbling rats. J. Nutr., 107: 1768-74, 1977.

- OZELCI, A.; ROMSOS, D.R.; LEVEILLE, G.A. Influence of a liquid diet and meal pattern on body weight and body fat in rats. J. Nutr., 108: 1128-36, 1978.
- PAGLIASSOTTI, M.J.; HORTON, T.J.; GAYLES, E.C.; KOPPENHAFFER, T.A.; ROSENZWEIG, T.D.; HILL, J.O. Reduced insulin suppression of glucose appearance is related to susceptibility to dietary obesity in rats. Am. J. Physiol. Regulatory Integrative Comp. Physiol., 272: R1264-70, 1997.
- PAGLIASSOTTI, M.J.; GAYLES, E.C.; PODOLIN, D.A.; WEI, Y.; MORIN, C.L. Developmental stage modifies diet-induced peripheral insulin resistance in rats. Am. J. Physiol. Regulatory Integrative Comp. Physiol., 278: R66-R73, 2000.
- PALMIQUIST, D.L.; LEARN, D.B.; BAKER, N. Re-evaluation of effects of meal feeding on lipogenic activation by glucose in rats. J. Nutr., 107: 502-9, 1977.
- PAN, D.D.; LILLIOJA, S.; KRIKETOS, A.D.; MILNER, M.R.; BAUR, L.A.; BOGARDUS, C.; JENKINS, A.B.; STORLIEN, L.H. Skeletal muscle triglyceride levels are inversely related to insulin action. Diabetes, 46: 983-8, 1997.
- PARK, J.; KIM, C.; KONG, S.K.; SUH, K.I.; LEE, K. Effects of FFA on insulin-stimulated glucose fluxes and muscle glycogen synthase activity in rats. Am. J. Physiol., 275 (Endocrinol. Metab., 38): E338-44, 1998.
- PARKER, D.R.; WEISS, S.T.; TROISI, R.; CASSANO, P.A.; VOKONAS, P.S.; LANDSBERG, L. Relationship of dietary saturated fatty acids and body habitus to serum insulin concentration: the Normative Aging Study. Am. J. Clin. Nutr., 58: 129-36, 1993.
- PELLEYMOUNTER, M.A.; CULLEN, M.J.; BAKER, M.B.; HECHT, R.; WINTERS, D.; BOONE, T.; COLLINS, F. Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice. Science, 269: 540-3, 1995.
- PEDERSEN, S.B.; BORGLUM, J.D.; SCHMITZ, O.; BAK, J.F.; SORENSEN, N.S.; RICHELSEN, B. Abdominal obesity is associated with insulin resistance and reduced glycogen synthase activity in skeletal muscle. Metabolism, 42: 998-1005, 1993.
- PEREIRA, L. O.; FRANCISCHI, R. P.; KLOPFER, M.; PERROTI, A. C.; CAMPOS, P. L.; SAWADA, L. A.; COSTA, S. R.; LANCHETA JR., A. H. Different intensities of physical activities with or without hypocaloric diet: effects on body composition, food consumption and plasmatic profile in obese women. Med. Sci. Sports Exerc., 30: S238, 1998.
- PICARD, F.; BOIVIN, A.; LALONDE, J.; DESHAIES, Y. Resistance of adipose tissue lipoprotein lipase to insulin action in rats fed an obesity-promoting diet. Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab., 282: E412-18, 2002.
- PICÓ, C.; PONS, A.; GIANOTTI, M.; PALOU, A. Sustained changes in blood amino nitrogen compartmentation during recovery from cafeteria feeding in rats. Arch. Int. Physiol. Biochi. Biophys., 99: 345-8, 1991.
- PIKE, M. Industrial nutrition. London, MacDonald & Evans, 1950.
- POCKNEE, R.C.; HEATON, F.W. The effect of feeding frequency on the growth and composition of individual organs in the rat. Br. J. Nutr., 35: 97-104, 1976.
- POPKIN, B. M.; DOAK, C. M. The obesity epidemic is a worldwide phenomenon. Nutr. Rev., 56: 106-14, 1998.
- POST, B.; KEMPER, H.C.; STORM VAN ESSEN, L. Longitudinal changes in nutritional habits of teenagers: differences in intake between schooldays and weekend days. Br. J. Nutr., 57: 161-76, 1987.

- PRENTICE, A.M. Manipulation of dietary fat and energy density and subsequent effects on substrate flux and food intake. Am. J. Clin. Nutr., **67** (suppl): 535S-41S, 1998.
- PRINS, J.B. Food, obesity and non-insulin-dependent: are there molecular links? Proc. Nutr. Soc., **56**: 889-898, 1997.
- RACETTE, S. B.; SCHOELLER, D. A.; KUSHNER, R. F.; NEIL, K. M. Exercise enhances dietary compliance during moderate energy restriction in obese women. Am. J. Clin. Nutr., **62**: 345-9, 1995.
- RANDLE, P.J.; HALES, C.N.; GARLAND, P.B.; NEWSHOLME, E.A. The glucose fatty-acid cycle: its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. Lancet, **6**: 785-9, 1963.
- RAVUSSIN, E.; KLIMES, L.; SEBOKOVA, E.; HOWARD, B.V. lipids and insulin resistance: what we've learned at the forth international smolenice symposium. Ann.N.Y.Acad. Sci., **967**: 576-80, 2002.
- REEVES, W.G. Insulin antibody determination: theoretical and practical considerations. Diabetologia **24**: 399-403, 1983.
- RIGALLEAU, V.; BEYLOT, M.; PACCIAUDI, C.; GUILLOT, C.; DELERIS, G.; GIN, H. Mechanism of glucose intolerance during triglyceride infusion. Am. J. Physiol., **275**: E641-8, 1998.
- RIGALLEAU, V.; BINNERT, C.; MINEHIRA, K.; STEFANONI, N.; SCHNEITER, P.; HENCHOZ, E.; MATZINGER, O.; CAYEUX, C.; JÉQUIER, E.; TAPPY, L. In normal men, free fatty acids reduce peripheral but not splanchnic glucose uptake. Diabetes, **50**: 727-32, 2001.
- ROCCHINI, A.P.; MARKER, P.; CERVENKA, T. Time course of insulin resistance associated with feeding dogs a high-fat diet. Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab., **272**: E147-54, 1997.
- RODEN, M.; PRICE, T.B.; PERSEGHIN, G.; PETERSEN, K.F. ROTHMAN, D.L.; CLINE, G.W.; SHULMAN, G.I.: Mechanism of free fatty-acids induced insulin resistance in humans. J. Clin. Invest., **97**: 2859-65, 1996.
- ROLLS, B.J.; KIM-HARRIS, S.; FISHMAN, M.W.; FOLTIN, R.W.; MORAN, T.H.; STONER, S.A. Satiety after preloads with different amounts of fat and carbohydrate: implications for obesity. Am. J. Clin. Nutr., **60**: 476-87, 1994.
- ROLLS, B.J. Carbohydrate, fats, and satiety. Am. J. Clin. Nutr., **61** (suppl): 960S-7S, 1995.
- ROLLS, B. J.; SHIDE, D. J. The influence of dietary fat on food intake and body weight. Nutr. Rev., **50**: 283-90, 1992.
- ROMSOS, D.R.; LEVEILLE, G.A. Effect of meal frequency and diet composition on glucose tolerance in the rat. J. Nutr., **104**: 1503-12, 1974.
- ROZEN, R.; BRIGANT, L.; APFELBAUM, M. Effects of cycles of food restriction followed by ad libitum refeeding on body composition and energy expenditure in obese rats. Am. J. Clin. Nutr. **59**: 560-5, 1994.
- RUDERMAN, N.B.; SAHA, A.K.; VAVVAS, D.; WITTERS, L.A. malonyl-CoA, fuel sensing, and insulin resistance. Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab., **276**: E1-E18, 1999.
- RUGGERI, G.B. Influência da composição da dieta sobre o pâncreas endócrino de ratos normais. São Paulo, 1999. [Tese de Doutorado - Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo].
- SANTOS, A.; VILLELA, F.G.; MACHADO, U.F.; CURI, R.; CARPINELLI, A.R. Insulin secretion in the isolated islets of single-, regular-fasted and fed rats. Physiol. Behav., **45**: 923-7, 1989.

- SBC - Sociedade Brasileira de Cardiologia. Programa nacional de prevenção e epidemiologia [on line]. 1999. [citado em 14/04/99]. Disponível no endereço: <www.cardiol.br/epidemio.htm>
- SBD – Sociedade Brasileira de Diabetes. Estatística de Diabetes no Brasil [on line]. 1999. [citado em 05/08/99]. Disponível no endereço: <www.diabetes.org.br/estatisticas/Estat_set.html>
- SCHINDLER, C.; FELBER, J.P. Study on the effect of a high fat diet on diaphragm and liver glycogen and glycerides in the rat. Horm. Metab. Res., 18: 91-93, 1986.
- SCHOENBORNE, B.M.; CANOLTY, N.L. Influence of meal frequency on body composition and energy utilization in male weanling rats. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 163: 10-14, 1980.
- SCHULZ, L. O.; SCHOELLER, D. A. A compilation of total daily energy expenditures and body weights in healthy adults. Am. J. Clin. Nutr., 60: 676-81, 1994.
- SCLAFANI, A.; SPRINGER, D. Dietary obesity in adult rats: similarities to hypothalamic and human obesity syndromes. Physiol. Behav., 17: 461-71, 1976.
- SCLAFANI, A. Dietary obesity models. In: Björntorp, P.; Brodoff, B. N. Obesity. J. B. Lippincott Company, Philadelphia, 1992, p. 241-248.
- SEGUÉS, T.; SALVADÓ, J.; AROLA, L.; ALEMANY, M. Long-term effects of cafeteria diet feeding on young Wistar rats. Biochem. Mol. Biol. Int., 22: 321-8, 1994.
- SEGAL, K.R.; LANDT, M.; KLEIN, S. Relationship between insulin sensitivity and plasma leptin concentration in lean and obese men. Diabetes, 45: 988-91, 1996.
- SEIDELL, J. C. Dietary fat and obesity: an epidemiologic perspective. Am. J. Clin. Nutr., 67: 546S-50S, 1998.
- SEIDELL, J.C. Obesity insulin resistance and diabetes – a worldwide epidemic? In: Diet and the metabolic syndrome – International Symposium; 1999 Aug 26-28; Ystad (Sweden). Ystad: Swedish Nutrition Foundation; 1999, p. 20.
- SHETTY, P. S. Physiological mechanisms in the adaptive response of metabolic rates to energy restriction. Nutr. Res. Rev., 3: 49-74, 1990.
- SICHERI, R. Dietary patterns and their associations with obesity in the Brazilian city of Rio de Janeiro. Obes. Res., 10: 42-8, 2002.
- SJÖRGREEN, B.; NORDENKSJÖLD, T.; HOLMGREN, H.; WÖLLERSTRÖM, J. Beitrag zur Kenntnis des Lebensrhythmus. Pflügers Arch. Gesamte Physiol. Menschen. Tiere., 240-7, 1938.
- STANSBIE, D.; BROWNSEY, R.W.; CRETTEZ, M.; DENTON, R.M. Acute effects in vivo of anti-insulin serum on rates of fatty acid synthesis and activities of acetyl-coenzyme A carboxylase and pyruvate dehydrogenase in liver and epididymal adipose tissue of fed rats. Biochem. J., 160: 413-6, 1976.
- STEPPAN, C.M.; BAILEY, S.T.; BHAT, S.; BROWN, E.J.; BANERJEE, R.R.; WRIGHT, C.M. PATEL, H.R.; AHIMA, R.S.; LAZER, M.A. The hormone resistin links obesity to diabetes. Nature, 409: 307-12, 2001.
- STEIN, D.T.; STEVENSON, B.E.; CHESTER, M.W.; BASIT, M.; DANIELS, M.B.; TURLEY, S.D. The insulinotropic potency of fatty acids is influenced profoundly by their chain length and degree of saturation. J. Clin. Invest., 100: 398-403, 1997.
- STEVENSON, J.A.F.; FELEKI, V.; SZLAVKO, A.; BEATON, J.R. Food restriction and lipogenesis in the rat. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 116: 178-82, 1964.
- STOLL, B. A. Timing of weight gain in relation to breast cancer risk. Ann. Oncol., 6: 245-8, 1995.

- STORLIEN, L.H.; JAMES, D.E.; BURLEIGH, K.M.; CHISHOLM, D.J.; KRAEGEN, E.W. Fat feeding causes widespread in vivo insulin resistance, decreased energy expenditure, and obesity in rats. Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab., 251: E576-83, 1986.
- STORLIEN, L.H.; BAUR, L.A.; KRIKETUS, A.D.; PAN, D.A.; COONEY, G.J.; JENKINS, A.B. et al. Dietary fats and insulin action. Diabetologia, 39: 621-31, 1996.
- STORLIEN, L.H.; JENKINS, A.B.; CHISHOLM, D.J.; PASCOE, W.S.; KHOURI, S.; KRAEGEN, E.W. Influence of dietary fat composition on development of insulin resistance in rats – relationship to muscle triglyceride and ω -3 fatty acids in muscle phospholipid. Diabetes, 40: 280-9, 1991.
- STORLIEN, L.H.; OAKES, N.D.; PAN, D.A.; KUSUNOKI, M.; JENKINS, A.B. Syndrome of insulin resistance in the rat-inducement by diet and amelioration with benfluorex. Diabetes, 42: 457-62, 1993.
- STORLIEN, L.H. Diet composition and insulin action in humans. In: Diet and the metabolic syndrome – International Symposium; 1999 Aug 26-28; Ystad (Sweden). Ystad: Swedish Nutrition Foundation; 1999, p. 34.
- SWINBURN, B.; RAVUSSIN, E. Energy balance or fat balance? Am. J. Clin. Nutr., 57 (suppl): 766S-71S, 1993.
- SUMMERBELL, C.D.; MOODY, R.C.; SHANKS, J.; STOCK, M.J.; GEISLER, C. Relationship between feeding pattern and body mass index in 220 free-living people in four age groups. Eur. J. Clin. Nutr., 50: 513-9, 1995.
- TAGLE, M. A. Nutrição. Trad. I. S. Martins. São Paulo, Artes Médicas, 1981.
- TAI, M.M.; CASTILLO, P.; PI-SUNYER, F.X. Meal size and frequency: effect on the thermic effect of food. Am. J. Clin. Nutr., 54: 783-7, 1991.
- TAKAHASHI, R.F.; CURI, R.; CARPINELLI, A.R. Insulin secretion to glucose stimulus in pancreatic islets isolated from rats fed unbalanced diets. Physiol. Behav., 50: 787-91, 1991.
- TRAXINGER, R.R.; MARSHALL, S. Role of amino acids in modulating glucose-induced desensitization of the glucose transport system. J. Biol. Chem., 264: 20910-6, 1989.
- TREMBLAY, A.; ALMÉRAS, N.; BOER, J.; KRANENBARG, E. K.; DESPRÉS, J.P. Diet composition and postexercise energy balance. Am. J. Clin. Nutr., 59: 975-9, 1994.
- VAN AMELSVOORT, J.M.M.; VAN DER BECK, A.; STAM, J.J.; HOUTSMULLER, U.M.T. Dietary influence on the insulin function in the Epididymal fat cell of the Wistar rat. I-Effect of type of fat. Ann. Nutr. Metab., 32: 138-48, 1988.
- VENNE, V.W.P.H.G.; WESTERP, K.R.; KESTER, A.D.M. Effect of the pattern of food intake on human energy metabolism. Br. J. Nutr., 70:103-115, 1993.
- VESSBY, B. Dietary fat and insulin action in humans. In: Diet and the metabolic syndrome – International Symposium; 1999 Aug 26-28; Ystad (Sweden). Ystad: Swedish Nutrition Foundation; 1999, p. 35.
- VOSS, S.; KROKE, A.; KLIPSTEIN-GROBUSCH, K.; BOEING, H. Is macronutrient composition of dietary intake data affected by underreporting? Results from the EPIC-Potsdam study. Eur. J. Clin. Nutr., 52: 119-126, 1998.
- WARRAN, J.H.; MARTIN, B.H.; KROLEWSKI, A.S.; SOELDNER, J.S.; KAHN, C.R. Slow removal rate and hyperinsulinemia precede the development of type II diabetes in the offspring of diabetic patients. Ann. Intern. Med., 113: 909-1015, 1990.

- WAY, J.M.; GÖRGÜN, C.Z.; TONG, Q.; UYSAL, K.T.; BROWN, K.K.; HARRINGTON, W.W.; OLIVER, W.R.Jr.; WILLSON, T.M.; KLIEWER, S.A.; HOTAMISLIGIL, G.S. Adipose tissue resistin expression is severely suppressed in obesity and stimulated by peroxisome proliferator-activated receptor γ agonists. J. Biol. Chem., 276: 25651-3, 2001.
- WEBSTER, W.W.; STINSON, S.F.; WONG, W.H. Manual procedure for direct microassay of serum glucose by use of 0-toluidine, and its adaptation to the SMA 12-60 AutoAnalyzer. Clin. Chem., 17: 1050-4, 1971.
- WEST, D. B.; YORK, B. Dietary fat, genetic predisposition, and obesity: lessons from animal models. Am. J. Clin. Nutr., 67: 505S-12S, 1998.
- WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. Diabetes mellitus: report of a WHO study group. [Technical Report Series 727], Geneva, 1985.
- WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. [Technical Report Series 797], Geneva, 1990.
- WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. Physical Status: the use and interpretation of anthropometry.[Technical Report Series 854], Geneva, 1995.
- WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. Obesity – preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO Consultation on Obesity. Geneva, 1998.
- WILKES, J.J.; BONEN, A.; BELL, R.C. A modified high-fat diet induces insulin resistance in rat skeletal muscle but not adipocytes. Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab., 275: E679-86, 1998.
- WILEY, J.H.; LEVEILLE, G.A. Influence of periodicity of eating on the activity of adipose tissue and muscle glycogen synthesizing enzymes in the rat. J. Nutr., 100: 85-93, 1970.
- WINKLER, G.; DORING, A.; KEIL, U. [Differences in nutrition behaviour between weekends and work days: results of the nutrition survey in 1985/85 of the MONICA project in Augsburg]. Z. Ernährungswiss., 30: 313-7, 1991.
- WOLEVER, T.M.S. Metabolic effects of continuous feeding. Metabolism, 39: 947-51, 1990.
- WOOD, J.D.; REID, J.T. the influence of dietary fat on fat metabolism and body fat deposition in meal-feeding and nibbling rats. Br. J. Nutr., 34: 15- 24, 1975.
- ZIERATH, J.R.; HOUSEKNECHT, K.L.; GNUDI, L.; KAHN, B.B. High-fat feeding impairs insulin-stimulated GLUT-4 recruitment via an early insulin-signaling defect. Diabetes, 46: 215-23, 1997.

Apêndices

Apêndice 1: Tabelas gerais com a apresentação de todos os resultados e figuras ilustrativas das análises estatísticas de análise de variância bifatorial (ANOVA 2-way).

Apêndice 2: Artigo publicado na Revista Paulista de Educação Física, v. 15., n. 2, p. 117-40, 2001.

Apêndice 3: Artigo submetido a apreciação da Revista Nutrire, da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição.

Apêndice 1

A seguir estão apresentados todos os resultados obtidos, na forma de quadros e figuras com as respectivas análises estatísticas. Como apresentado na metodologia, foram calculadas análises de variância (ANOVA) bifatorial considerando como fatores:

- 1) *tipo* de ração ingerida (controle ou hiperlipídica) e
- 2) *frequência* de ingestão (padrão “nibbling” ou “gorging”).

Para cada variável foram testados os efeitos de cada um dos fatores isolados e da interação entre ambos fatores. Sobre o gráfico de cada variável testada, estão apresentados os valores da estatística F, grau de liberdade e seu resíduo e o valor de p obtido para cada uma das 3 (três) análises efetuadas (influência do tipo de ração, influência da frequência de ingestão e influência da interação entre tipo de ração e frequência de ingestão) segundo a notação padrão:

F (grau de liberdade, resíduo)= valor; $p < \text{valor}$.

Caso a análise não tenha resultado em influência significativa do fator, estão ainda apresentados os valores da estatística F, porém o valor de p é indicado como n.s. (não significativo). Objetivando comparar as médias entre os quatro experimentais e testar a significância das diferenças entre elas, foram calculados testes a posteriori (post-hoc LSD-planned comparison). O número de repetições testadas dependeu do número de animais utilizados para cada parâmetro avaliado, sendo informado em cada quadro ou figura o n de cada grupo. Todas as análises estatísticas foram efetuadas com o *software STATISTICA for Windows versão 5.0* (StatísticaStatSoft, Inc. (1995). [Computer program manual]. Tulsa, OK: StatSoft, Inc., 2325 East 13th Street, Tulsa, OK 74104, (918) 583-4149, fax: (918) 583-4376.). O nível de significância foi determinado em $p \leq 0,05$.

Tabela 1: Peso corporal em gramas (média e desvio-padrão) ao longo do experimento (semana 0, semana 4 e semana 8) em cada grupo experimental e análise bi-fatorial dos efeitos de cada fator testado (tipo de ração, frequência de ingestão e interação entre ambos)&:

Grupos	Peso (gramas)					
	Peso corporal sem. 0		Peso corporal sem. 4		Peso corporal sem. 8	
	média	dp	média	dp	média	dp
CG	178,3	28,8	209,7	27,8	221,1	23,5
CN	178,0	31,0	192,6	13,9	219,5	17,7
HLG	177,8	28,3	223,3	20,0	242,0	25,7
HLN	177,5	31,2	214,9	20,4	241,7	23,2
Efeito tipo de ração	N.S.		p < 0.01		p < 0.01	
Efeito frequência de ingestão	N.S.		p < 0.05		N.S.	
Efeito da interação	N.S.		N.S.		N.S.	

N.S.: diferença não significativa

&. CG: controle "gorging" (n=12); CN: controle "nibbling" (n=12); HLG: hiperlipídica "gorging" (n=12); HLN: hiperlipídica "nibbling" (n=12);

Tabela 2: Peso (média e desvio-padrão) dos depósitos de tecido adiposo (tecido adiposo marrom, corpo adiposo e tecido adiposo retroperitoneal) e fígado relativos aos pesos corporais anteriores ao sacrifício (mg de tecido/g peso corporal) em cada grupo experimental e análise bi-fatorial dos efeitos de cada fator testado (tipo de ração, frequência de ingestão e interação entre ambos) &:

Grupos	Peso relativo ao peso corporal (mg de tecido/g de peso corporal)							
	TA Marrom		Corpo Adiposo		TA Retroperitoneal		Fígado	
	média	dp	média	dp	média	dp	média	dp
CG	1,3	0,4	13,2	5,3	5,3	2,0	33,9	3,0
CN	1,1	0,2	6,1	3,0	3,1	1,1	35,1	3,0
HLG	2,0	0,6	25,4	7,1	11,4	4,6	29,4	4,1
HLN	2,3	0,4	37,0	8,5	14,4	2,9	28,3	2,1
Efeito tipo de ração	p < 0.0001		p < 0.0001		p < 0.001		p < 0.001	
Efeito frequência de ingestão	N.S.		N.S.		N.S.		N.S.	
Efeito da interação	N.S.		p < 0.01		p < 0.05		N.S.	

N.S.: diferença não significativa

&. CG: controle "gorging" (n=6); CN: controle "nibbling" (n=6); HLG: hiperlipídica "gorging" (n=6); HLN: hiperlipídica "nibbling" (n=6);

Tabela 3: Conteúdo (média e desvio-padrão) de gorduras extraídas (mg de gordura/g de tecido) do fígado e dos depósitos de tecido adiposo (tecido adiposo marrom, corpo adiposo e tecido adiposo retroperitoneal) dos animais em cada grupo experimental e análise bi-fatorial dos efeitos de cada fator testado (tipo de ração, frequência de ingestão e interação entre ambos)^a;

Grupos	Conteúdo de gorduras (mg de gordura/g de tecido)							
	TA Marrom		Corpo Adiposo		TA Retroperitoneal		Fígado	
	média	dp	média	dp	média	dp	média	dp
CG	533,4	99,6	839,9	78,6	829,2	153,2	51,4	23,4
CN	428,6	51,6	718,3	86,3	861,9	257,2	45,0	23,5
HLG	542,6	64,0	943,7	91,0	839,5	181,4	57,0	21,9
HLN	449,6	114,8	907,8	60,6	952,8	137,0	63,7	32,8
Efeito tipo de ração	N.S.		p < 0,001			N.S.		N.S.
Efeito frequência de ingestão	p < 0,05		p < 0,05			N.S.		N.S.
Efeito da interação	N.S.		N.S.			N.S.		N.S.

N.S.: diferença não significativa

^a: CG: controle "gorging" (n=6); CN: controle "nibbling" (n=6); HLG: hiperlipídica "gorging" (n=6); HLN: hiperlipídica "nibbling" (n=6);

Tabela 4: Composição das carcaças quanto às gorduras e proteínas extraídas (média e desvio-padrão) (mg/g de carcaça) e conteúdo de glicogênio muscular e hepático (mg de glicogênio/g de tecido) dos animais em cada grupo experimental e análise bi-fatorial dos efeitos de cada fator testado (tipo de ração, frequência de ingestão e interação entre ambos)^a;

Grupos	Carcaças (mg/g de carcaça)				Conteúdo de Glicogênio (mg/g de tecido)			
	Gorduras		Proteínas		Muscular		Hepático	
	média	dp	média	dp	média	dp	média	dp
CG	88,13	21,04	217,66	64,38	0,538	0,079	1,104	0,472
CN	55,68	11,16	202,72	66,45	0,562	0,091	0,984	0,300
HLG	101,85	19,24	184,83	79,82	0,454	0,144	1,531	0,877
HLN	101,32	14,28	193,54	89,89	0,447	0,050	0,674	0,292
Efeito tipo de ração	p < 0.0001		N.S.		p < 0.05		N.S.	
Efeito frequência de ingestão	p < 0.05		N.S.		N.S.		p < 0.05	
Efeito da interação	p < 0.05		N.S.		N.S.		N.S.	

N.S.: diferença não significativa

^a: CG: controle "gorging" (n=6); CN: controle "nibbling" (n=6); HLG: hiperlipídica "gorging" (n=6); HLN: hiperlipídica "nibbling" (n=6); n=11 para CG e HLG quanto ao conteúdo de gorduras nas carcaças

Tabela 5: Colesterolemia, trigliceridemia, HLD-c sérico e albuminemia (média e desvio-padrão) dos animais em cada grupo experimental e análise bi-fatorial dos efeitos de cada fator testado (tipo de ração, frequência de ingestão e interação entre ambos)^a:

Grupos	Concentração sérica (mg/dL)					
	Colesterol		Triacilglicerol		HDL-colesterol	
	média	dp	média	dp	média	dp
CG	61,1	21,7	35,6	11,1	39,8	11,3
CN	58,2	22,8	39,4	14,3	44,0	10,8
HLG	51,4	17,3	34,8	17,6	38,9	5,3
HLN	57,8	18,5	41,6	20,3	37,5	8,8
Efeito tipo de ração	N.S.		N.S.		N.S.	
Efeito frequência de ingestão	N.S.		N.S.		N.S.	
Efeito da interação	N.S.		N.S.		N.S.	
					p < 0,01	
					N.S.	
					N.S.	
					N.S.	

N.S.: diferença não significativa

^a: CG: controle "gorging" (n=6); CN: controle "nibbling" (n=6); HLG: hiperlipídica "gorging" (n=6); HLN: hiperlipídica "nibbling" (n=6);

Tabela 6: Insulinemia, glicemia e índice glicose/insulina (média e desvio-padrão) em cada grupo experimental e análise bi-fatorial dos efeitos de cada fator testado (tipo de ração, frequência de ingestão e interação entre ambos)^a:

Grupos	Concentração sérica					
	Glicose (mg/dL)		Insulina (uUI/mL) [*]		Índice Glicose/Insulina [*]	
	média	dp	média	dp	média	dp
CG	108,2	8,7	5,08	2,42	24,99	9,50
CN	107,6	5,5	4,89	2,70	26,83	12,58
HLG	115,9	11,1	5,62	2,02	21,71	5,12
HLN	106,0	4,9	5,79	3,91	24,24	14,19
Efeito tipo de ração	N.S.		N.S.		N.S.	
Efeito frequência de ingestão	N.S.		N.S.		N.S.	
Efeito da interação	N.S.		N.S.		N.S.	

N.S.: diferença não significativa

^a: CG: controle "gorging" (n=6); CN: controle "nibbling" (n=6); HLG: hiperlipídica "gorging" (n=6); HLN: hiperlipídica "nibbling" (n=6);

^{*}: CG (n=5); CN (n=3); HLG (n=5); HLN (n=4)

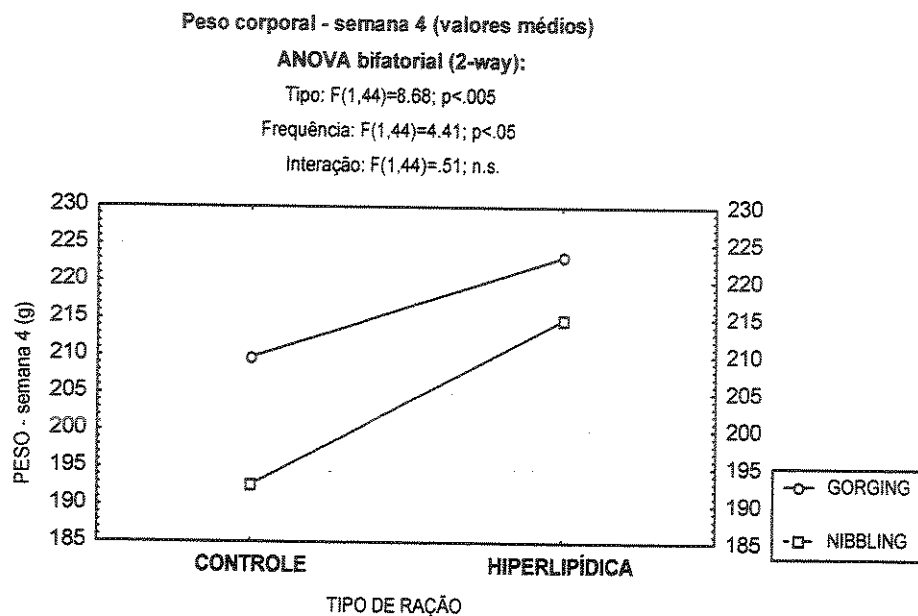


Figura 1: Valores médios e resultados estatísticos da análise de variância bifatorial (ANOVA 2-way) da variável **peso corporal na semana 4** em resposta aos diferentes tratamentos aplicados (tipo de ração ingerida, frequência de ingestão e interação entre ambos fatores) nos quatro grupos experimentais

Comentários sobre a análise estatística da variável peso corporal na semana 4:

- 1) Houve influência significativa do tipo de ração ingerida sobre o peso corporal na quarta semana de experimento, sendo que a dieta hiperlipídica resultou em maior peso corporal do que a ração controle;
- 2) Houve influência significativa da frequência de ingestão sobre o peso corporal na quarta semana, sendo que o padrão gorging resultou em maior peso corporal do que o padrão "nibbling";
- 3) Não houve interação significativa entre o tipo e a frequência de ingestão sobre o peso corporal na quarta semana;

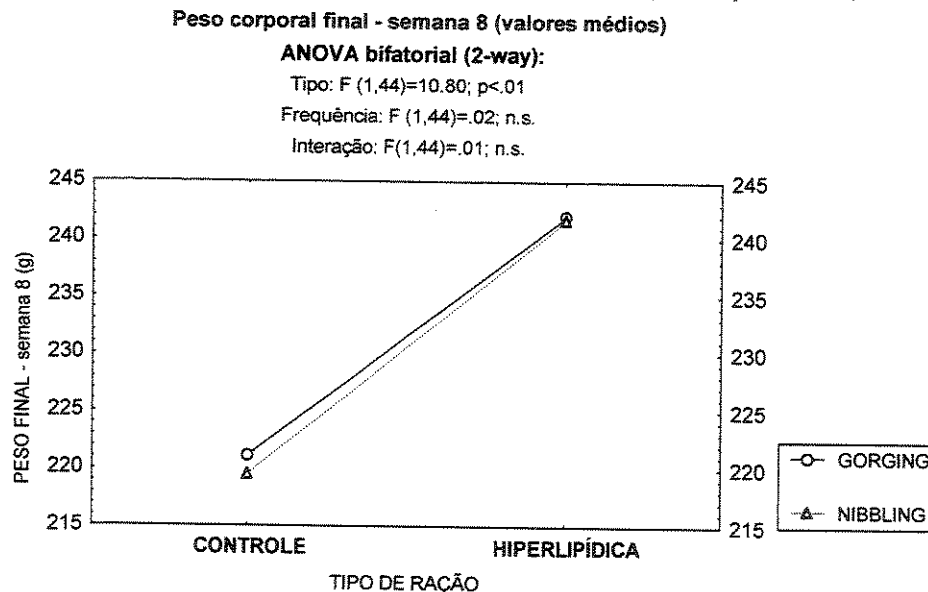


Figura 2: Valores médios e resultados estatísticos da análise de variância bifatorial (ANOVA 2-way) da variável **peso corporal final (semana 8)** em resposta aos diferentes tratamentos aplicados (tipo de ração ingerida, frequência de ingestão e interação entre ambos fatores) nos quatro grupos experimentais:

Comentários sobre a análise estatística da variável peso corporal na semana 8:

- 1) Houve influência significativa do tipo de ração ingerida sobre o peso corporal ao final do experimento, sendo que a dieta hiperlipídica resultou em maior peso corporal do que a ração controle;
- 2) Não houve influência significativa da frequência de ingestão sobre o peso corporal ao final das 8 semanas;
- 3) Não houve interação significativa entre o tipo e a frequência de ingestão sobre o peso corporal na oitava semana;

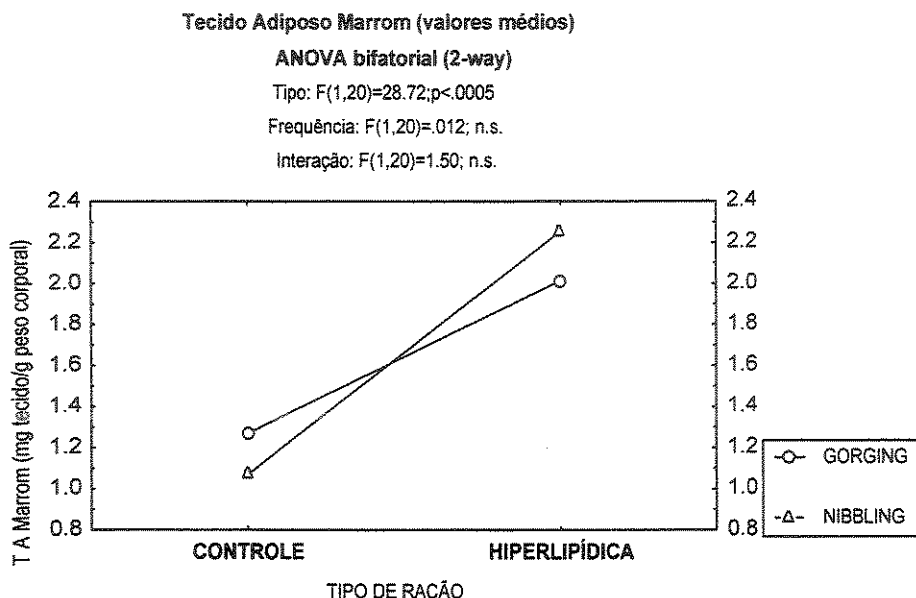


Figura 3: Valores médios e resultados estatísticos da análise de variância bifatorial (ANOVA 2-way) da variável **peso relativo do tecido adiposo marrom** (mg de tecido/g peso corporal) em resposta aos diferentes tratamentos aplicados (tipo de ração ingerida, frequência de ingestão e interação entre ambos os fatores) nos 4 grupos experimentais.

Comentários sobre a análise estatística da variável peso do tecido adiposo marrom relativo ao peso corporal:

- 1) Houve influência significativa do tipo de ração ingerida sobre o peso dos depósitos de tecido adiposo marrom, sendo que a dieta hiperlipídica resultou maior peso deste tecido do que a ração controle;
- 2) Não houve influência significativa da frequência de ingestão sobre os pesos do tecido adiposo marrom;
- 3) Não houve influência significativa da interação entre o tipo e a frequência de ingestão sobre o peso do tecido adiposo marrom;

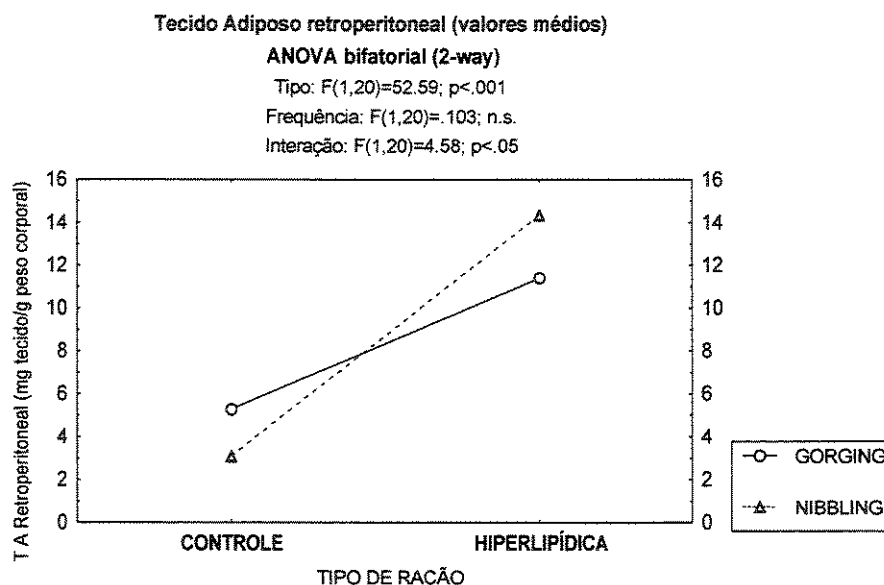


Figura 4: Valores médios e resultados estatísticos da análise de variância bifatorial (ANOVA 2-way) da variável **peso relativo do tecido adiposo retroperitoneal** (mg de tecido/g peso corporal) em resposta aos diferentes tratamentos aplicados (tipo de ração ingerida, frequência de ingestão e interação entre ambos os fatores) nos 4 grupos experimentais:

Comentários sobre a análise estatística da variável peso do tecido adiposo retroperitoneal relativo ao peso corporal:

- 1) Houve influência significativa do tipo de ração ingerida sobre o peso dos depósitos de tecido adiposo retroperitoneal, sendo que a dieta hiperlipídica resultou maior peso deste tecido do que a ração controle;
- 2) Não houve influência significativa da frequência de ingestão sobre o peso do tecido adiposo retroperitoneal;
- 3) Houve interação significativa entre o tipo e a frequência de ingestão sobre o peso do tecido adiposo retroperitoneal da seguinte forma: nos animais alimentados com a ração controle, o padrão *gorging* resultou maior peso deste tecido; nos ratos alimentados com a ração hiperlipídica, o padrão *nibbling* apresentou maior peso neste tecido.

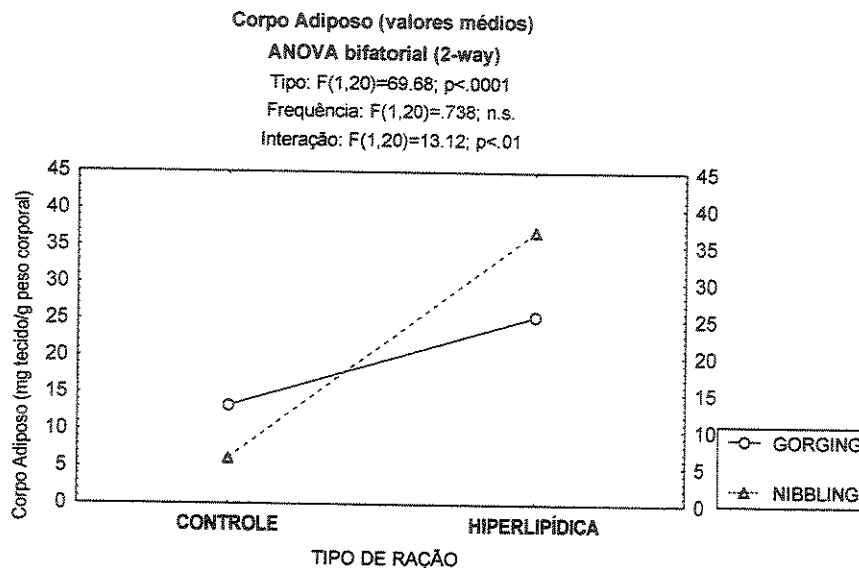


Figura 5: Valores médios e resultados estatísticos da análise de variância bifatorial (ANOVA 2-way) da variável **peso relativo do corpo adiposo** (mg de tecido/g peso corporal) em resposta aos diferentes tratamentos aplicados (tipo de ração ingerida, frequência de ingestão e interação entre ambos os fatores) nos 4 grupos experimentais:

Comentários sobre a análise estatística da variável peso do corpo adiposo relativo ao peso corporal:

- 1) Houve influência significativa do tipo de ração ingerida sobre o peso dos depósitos de corpo adiposo, sendo que a dieta hiperlipídica resultou maior peso deste tecido do que a ração controle;
- 2) Não houve influência significativa da frequência de ingestão sobre o peso dos corpos adiposo;
- 3) Houve interação significativa entre o tipo e a frequência de ingestão sobre o peso do corpo adiposo da seguinte forma: nos animais alimentados com a ração controle, o padrão *gorging* resultou maior peso deste tecido; nos ratos alimentados com a ração hiperlipídica, o padrão *nibbling* apresentou maior peso neste tecido.

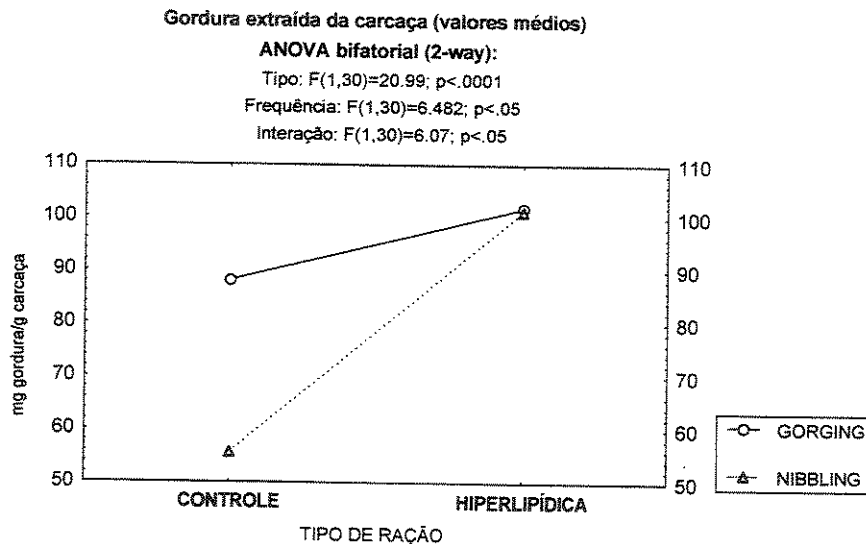


Figura 6: Valores médios e resultados estatísticos da análise de variância bifatorial (ANOVA 2-way) da variável **conteúdo de gorduras extraídas das carcaças** (mg gordura/g carcaça) em resposta aos diferentes tratamentos aplicados (tipo de ração ingerida, frequência de ingestão e interação entre ambos os fatores) nos 4 grupos experimentais:

Comentários sobre a análise estatística da variável conteúdo de gorduras extraídas das carcaças:

- 1) Houve influência significativa do tipo de ração ingerida sobre o conteúdo de gordura extraída das carcaças dos animais, sendo que a dieta hiperlipídica resultou maior conteúdo de gorduras do que a ração controle;
- 2) Houve efeito significativo da frequência de ingestão sobre o conteúdo de gordura extraída das carcaças dos animais, sendo que o padrão *gorging* resultou maior conteúdo de gorduras extraídas das carcaças do que o padrão *nibbling*;
- 3) Houve interação significativa entre o tipo e a frequência de ingestão sobre o conteúdo de gorduras extraídas das carcaças dos animais: com a ingestão da ração controle, o padrão *gorging* esteve associado ao maior conteúdo de gorduras nas carcaças; com a ração hiperlipídica, o padrão *gorging* e o padrão *nibbling* apresentaram semelhantes conteúdos de gorduras extraídas das carcaças.

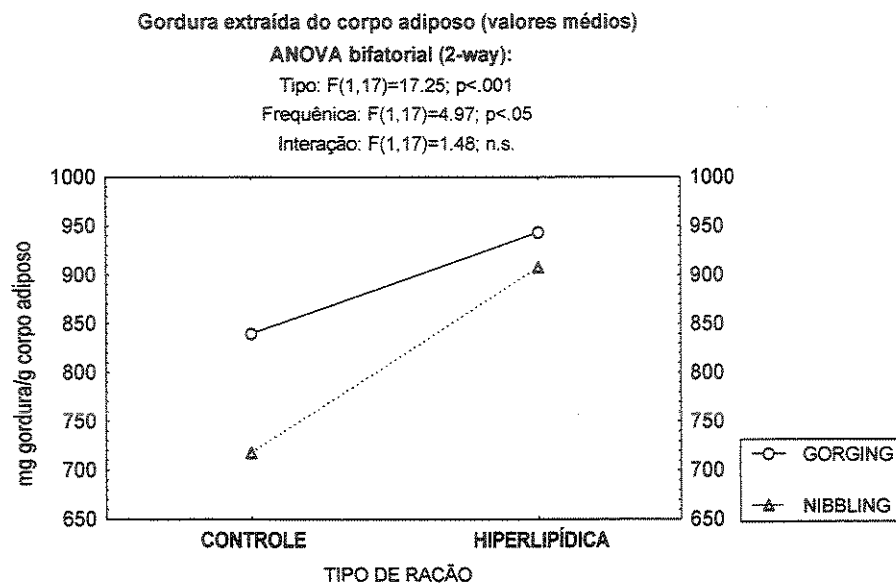


Figura 7: Valores médios e resultados estatísticos da análise de variância bifatorial (ANOVA 2-way) da variável **conteúdo de gordura no corpo adiposo** (mg gordura/g corpo adiposo) em resposta aos diferentes tratamentos aplicados (tipo de ração ingerida, frequência de ingestão e interação entre ambos os fatores) nos 4 grupos experimentais:

Comentários sobre a análise estatística da variável conteúdo de gorduras extraídas dos corpos adiposos:

- 1) Houve influência significativa do tipo de ração ingerida sobre o conteúdo de gordura extraída dos corpos adiposos dos animais, sendo que a dieta hiperlipídica resultou maior conteúdo de gorduras do que a ração controle;
- 2) Houve efeito significativo da frequência de ingestão sobre o conteúdo de gorduras extraídas dos corpos adiposos dos animais, sendo que o padrão *gorging* resultou maior conteúdo de gorduras do que o padrão *nibbling*;
- 3) Não houve significativa interação entre o tipo e a frequência de ingestão sobre o conteúdo de gorduras extraídas dos corpos adiposos dos animais.

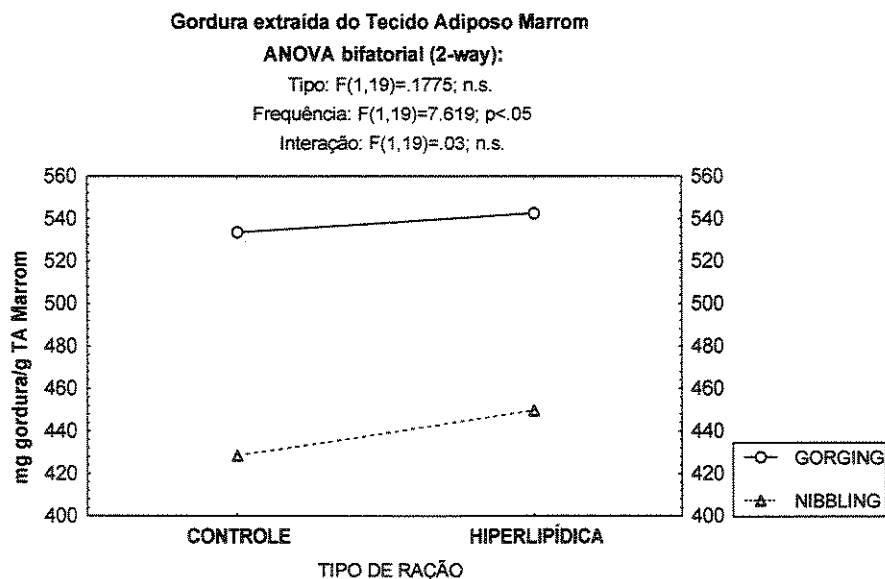


Figura 8: Valores médios e resultados estatísticos da análise de variância bifatorial (ANOVA 2-way) da variável **conteúdo de gordura no tecido adiposo marrom** (mg de gordura/g tecido adiposo marrom) em resposta aos diferentes tratamentos aplicados (tipo de ração ingerida, frequência de ingestão e interação entre ambos os fatores) nos 4 grupos experimentais:

Comentários sobre a análise estatística da variável conteúdo de gorduras extraídas dos tecidos adiposos marrons:

- 1) Não houve influência significativa do tipo de ração ingerida sobre o conteúdo de gorduras extraídas dos tecidos adiposos marrons;
- 2) Houve efeito significativo da frequência de ingestão sobre o conteúdo de gorduras extraídas dos tecidos adiposos marrons dos animais, sendo que o padrão *gorging* resultou maior conteúdo de gorduras do que o padrão *nibbling*;
- 3) Não houve influência significativa da interação entre o tipo e a frequência de ingestão sobre o conteúdo de gorduras extraídas dos tecidos adiposos marrons dos animais.

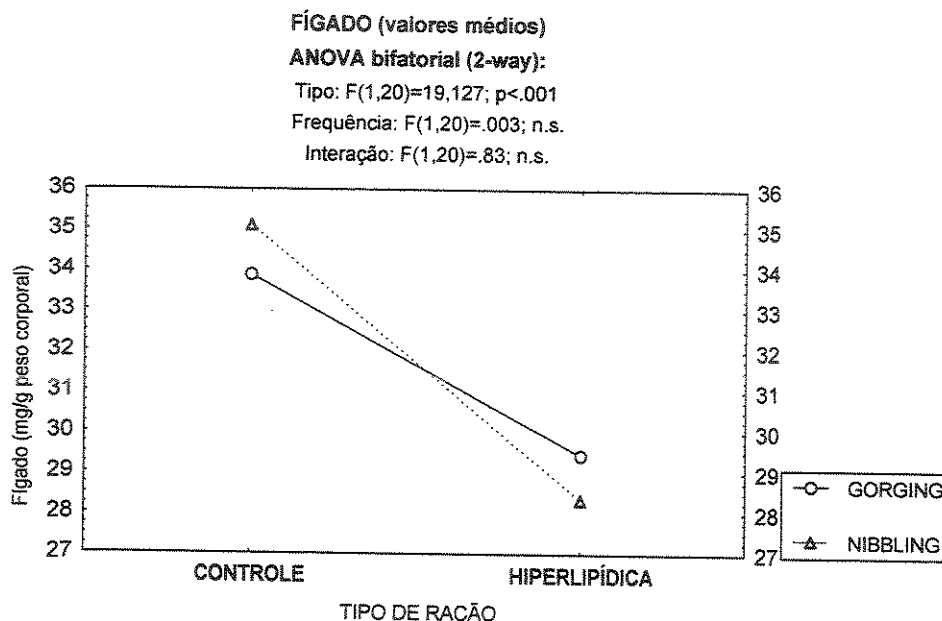


Figura 9: Valores médios e resultados estatísticos da análise de variância bifatorial (ANOVA 2-way) da variável **peso do fígado relativo ao peso corporal** (mg fígado/g peso corporal) em resposta aos diferentes tratamentos aplicados (tipo de ração ingerida, frequência de ingestão e interação entre ambos fatores) nos quatro grupos experimentais:

Comentários sobre a análise estatística da variável peso do fígado relativo ao peso corporal:

- 1) Houve influência significativa do tipo de ração sobre o peso do fígado, sendo que a ração controle resultou em maior peso do que a dieta hiperlipídica;
- 2) Não houve influência significativa da frequência de ingestão sobre o peso do fígado;
- 3) Não houve interação significativa entre o tipo de ração e a frequência de ingestão sobre o peso do fígado;

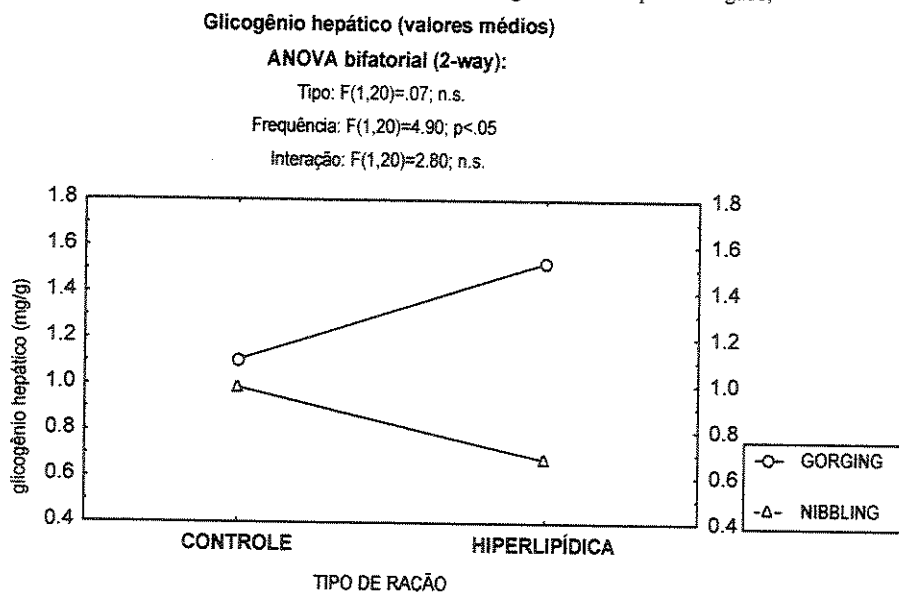


Figura 10: Valores médios e resultados estatísticos da análise de variância bifatorial (ANOVA 2-way) da variável **conteúdo de glicogênio hepático** (mg glicogênio/g tecido) em resposta aos diferentes tratamentos aplicados (tipo de ração ingerida, frequência de ingestão e interação entre ambos os fatores) nos 4 grupos experimentais:

Comentários sobre a análise estatística da variável conteúdo de glicogênio muscular:

- 1) Não houve efeito significativo do tipo de ração ingerida sobre conteúdo de glicogênio hepático;
- 2) Houve influência significativa da frequência de ingestão sobre o conteúdo de glicogênio hepático, sendo que o padrão *gorging* resultou maior conteúdo de glicogênio hepático do que o padrão *nibbling*;
- 3) Não houve influência significativa da interação entre o tipo de ração e a frequência de ingestão sobre o glicogênio hepático;

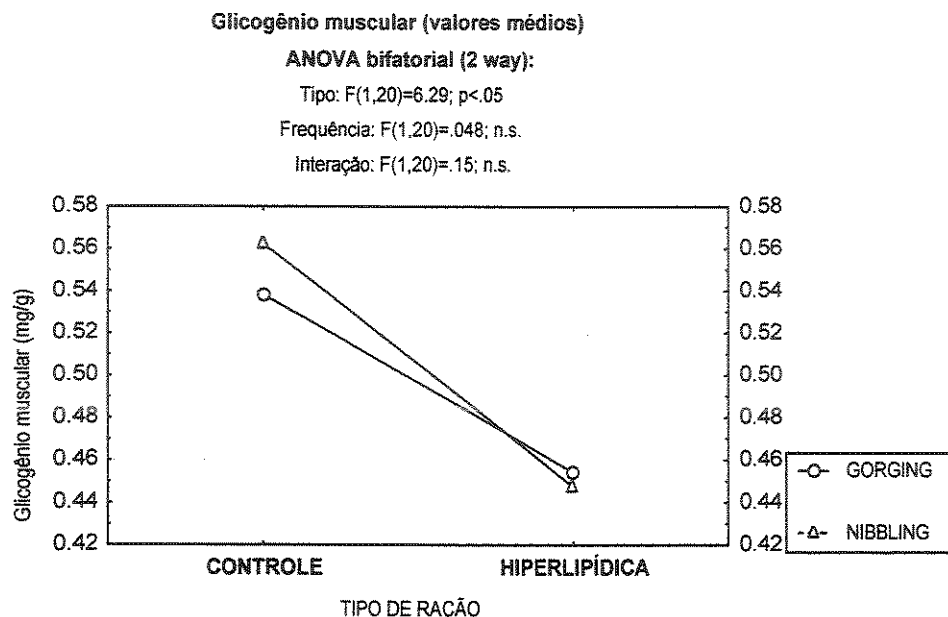


Figura 11: Valores médios e resultados estatísticos da análise de variância bifatorial (ANOVA 2-way) da variável **conteúdo de glicogênio muscular** (mg glicogênio/g tecido) em resposta aos diferentes tratamentos aplicados (tipo de ração ingerida, frequência de ingestão e interação entre ambos os fatores) nos 4 grupos experimentais:

Comentários sobre a análise estatística da variável conteúdo de glicogênio muscular:

- 1) Houve influência significativa do tipo de ração ingerida sobre conteúdo de glicogênio muscular, sendo que a dieta hiperlipídica resultou menor conteúdo do que a ração controle;
- 2) Não houve efeito significativo da frequência de ingestão sobre o conteúdo de glicogênio muscular;
- 3) Não houve influência significativa da interação entre o tipo de ração e a frequência de ingestão sobre o conteúdo de glicogênio muscular;

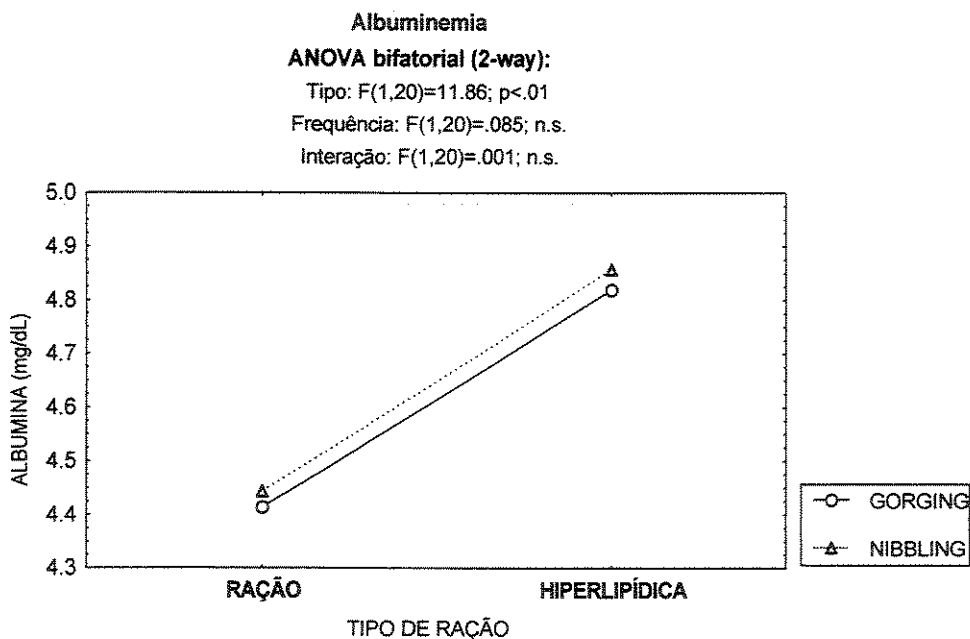


Figura 12: Valores médios e resultados estatísticos da análise de variância bifatorial (ANOVA 2-way) da variável **albuminemia** (mg/dL) em resposta aos diferentes tratamentos aplicados (tipo de ração ingerida, frequência de ingestão e interação entre ambos fatores) nos quatro grupos experimentais:

Comentários sobre a análise estatística da variável albuminemia:

- 1) Houve influência significativa do tipo de ração sobre a albumina sérica, sendo que a ração controle resultou em menor albuminemia do que a dieta hiperlipídica;
- 2) Não houve influência significativa da frequência de ingestão sobre a albuminemia;
- 3) Não houve interação significativa entre o tipo de ração e a frequência de ingestão sobre a albuminemia;

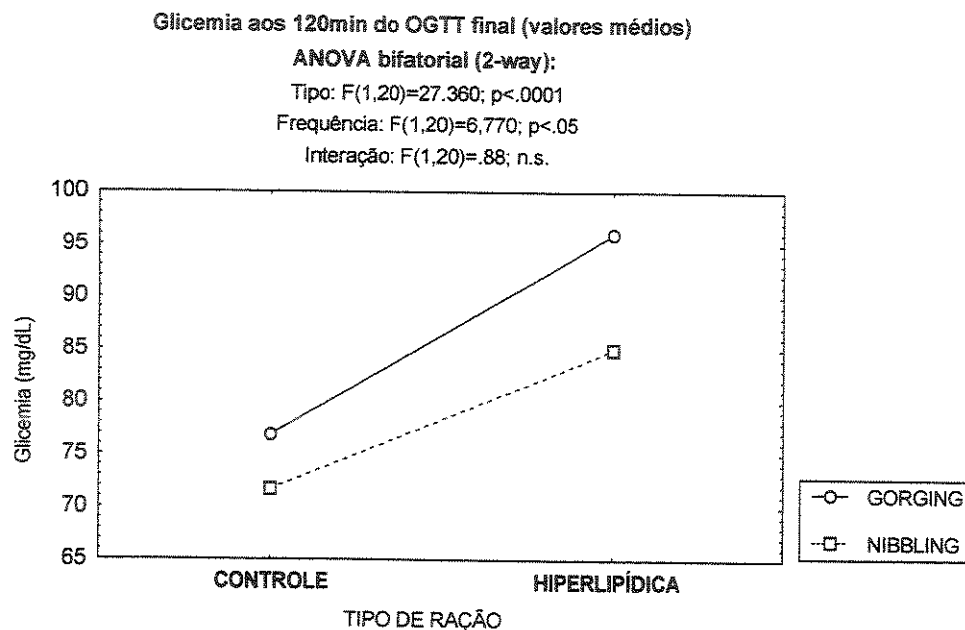


Figura 13: Valores médios e resultados estatísticos da análise de variância bifatorial (ANOVA 2-way) da variável **glicemia aos 120 min do teste oral de tolerância à glicose (OGTT)** na semana 8 (final) (mg/dL) em resposta aos diferentes tratamentos aplicados (tipo de ração ingerida, frequência de ingestão e interação entre ambos os fatores) nos 4 grupos experimentais:

Comentários sobre a análise estatística da variável glicemia aos 120 min do OGTT na semana 8:

- 1) Houve influência significativa do tipo de ração ingerida sobre a glicemia aos 120 min do OGTT, sendo que a dieta hiperlipídica resultou maior glicemia do que a ração controle;
- 2) Houve efeito significativo da frequência de ingestão sobre a glicemia aos 120 min do OGTT, sendo que o padrão *gorging* resultou maior glicemia do que o padrão *nibbling*;
- 3) Não houve influência significativa da interação entre o tipo e a frequência de ingestão sobre a glicemia aos 120 min do OGTT ao final das 8 semanas de intervenção.

Apêndice 2

EXERCÍCIO, COMPORTAMENTO ALIMENTAR E OBESIDADE: REVISÃO DOS EFEITOS SOBRE A COMPOSIÇÃO CORPORAL E PARÂMETROS METABÓLICOS

Rachel Pamfílio FRANCISCHI*
Luciana Oquendo PEREIRA*
Antonio Herbert LANCHÁ JUNIOR**

RESUMO

O objetivo principal desta revisão é avaliar as duas principais estratégias de tratamento não-farmacológico de sobrepeso e obesidade, o uso de restrições energéticas e de exercícios físicos. Dietas hipocalóricas são efetivas para a perda de peso e de gordura, porém podem causar perda de massa magra e consequentemente redução nas taxas metabólicas. O treinamento físico isolado, sem controle alimentar, causa modesta perda de peso. Em associação com dietas, facilita a adesão ao controle alimentar e garante maior sucesso na manutenção da massa magra e redução na massa adiposa. Muitos trabalhos apontam que o treinamento aeróbio regular intensifica a perda de gordura, porém não impede a perda de massa magra. O treinamento de contra-resistência parece minimizar esta perda, porém há dados indicando que este tipo de atividade não intensifica a perda de gordura. A combinação do trabalho aeróbio ao treinamento de força pode garantir uma concomitante perda de gordura e manutenção de massa magra, porém poucos estudos observaram estes efeitos. Os benefícios metabólicos do treinamento regular parecem ocorrer em resposta a ambos tipos de exercício. Apesar da melhora na qualidade de vida em resposta a prática regular de atividades físicas ser consenso na literatura, ainda não há conclusões quanto aos efeitos do exercício físico para obesos no tocante às alterações na composição corporal, devido ao baixo número de indivíduos estudados e diferentes protocolos de estudo.

UNITERMOS: Obesidade; Atividade física; Dieta; Composição corporal.

INTRODUÇÃO

Nos últimos 25 anos a obesidade emergiu como um epidemia nos países desenvolvidos e subdesenvolvidos (Popkin & Doak, 1998). Estima-se que a prevalência atual de excesso de peso nos Estados Unidos seja de 54% entre os adultos, e a de obesidade de 22% (WHO 1998). No caso do Brasil, a prevalência de obesidade foi estimada em 9,6% da população no final da década de 80, sendo que em 1974 era de 5,7% (Monteiro, Mondini, Souza & Popkin, 1995b). Acredita-se que esses valores sejam ainda maiores no final da década de 90. Os resultados

divulgados pela SBC (1999a) apontam que 32% dos brasileiros são obesos.

Estudos comprovam que a transição nos padrões nutricionais, relacionando-os com mudanças demográficas, sócio-econômicas e epidemiológicas ao longo do tempo, estão refletindo na diminuição progressiva da desnutrição e no aumento da obesidade (Monteiro et alii, 1995a, b). Não há dúvidas que as tendências em obesidade não são limitadas a uma determinada região ou grupo étnico ou racial. O incremento presente também em países como México, África

* Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas.

** Escola de Educação Física e Esporte da Universidade de São Paulo.

da Sul, Malásia e nações do pacífico indicam que a obesidade é um grande problema de saúde pública mundial (Popkin & Doak, 1998).

Ao analisar a evolução da obesidade ao longo dos anos, é certo admitir que o aumento no número de casos determina importantes implicações para a definição de prioridades e de estratégias de ação de Saúde Pública. Em especial quanto à prevenção e o controle das doenças não-transmissíveis, há de se reservar lugar de destaque para ações de educação em alimentação e em nutrição e para a prática de atividades físicas que alcancem de forma eficaz todas as camadas sociais da população (Monteiro et alii, 1995a). Não só como prevenção, mas estas duas estratégias também correspondem às principais formas de tratamento não-farmacológico da obesidade.

Para conseguir a diminuição da massa adiposa é necessária a existência de balanço energético negativo, condição na qual o gasto energético supera o consumo de energia (Hill, Drougas & Peters, 1993). Os estoques de energia do organismo são consumidos para sustentar os processos metabólicos, o que leva a perda de peso, frente ao déficit energético. O gasto energético é influenciado por três componentes demonstrado por Hill et alii (1993) como:

Gasto energético = TMB + $E_{\text{exercício físico}}$ + ETA,
sendo que a TMB é a taxa metabólica basal, $E_{\text{exercício físico}}$ corresponde à energia gasta nas atividades físicas e ETA é o efeito térmico do alimento. A FIGURA 1 representa a quantidade que cada componente contribui para o gasto energético total.

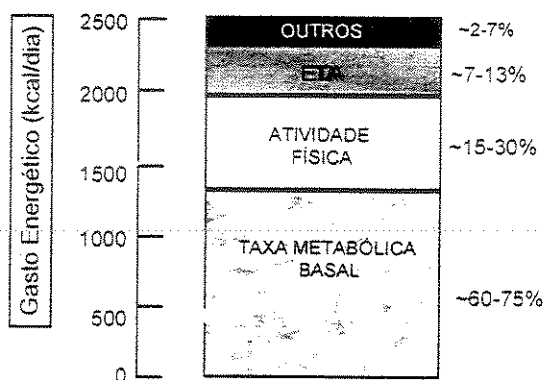


FIGURA 1 - Distribuição aproximada dos principais contribuintes do gasto energético diário relativo a um adulto sedentário (adaptado de Ravussin & Swinburn, 1992).

A taxa metabólica basal depende da idade (Hill et alii, 1993; Karhunen, Franssila-Kallunki, Rissanen, Kervinen, Kesäniemi & Uusitupa, 1997), sexo, quantidade de massa corporal (Hill et alii, 1993), gordura corporal, frequência cardíaca, níveis plasmáticos de insulina (Karhunen et alii, 1997), sendo influenciada principalmente pela massa magra (Hill et alii, 1993; Karhunen et alii, 1997).

A energia gasta durante as atividades físicas depende da intensidade e da duração desta, correspondendo ao maior efeito sobre o gasto energético humano. Em indivíduos muito sedentários, a energia gasta pela atividade física pode ser menor que 100 kcal/dia enquanto em um atleta este valor pode exceder 3000 kcal/dia (Poehlman, 1992). Os dados do IBGE indicam que

19,2% dos adultos brasileiros são pouco ativos (realizam exercícios apenas uma vez por semana) e somente 7,9% tem atividade regular três vezes por semana (SBC, 1999b). Nos Estados Unidos, pesquisas recentes apontam que 29,2% da população é inativa, 43,1% participa de algum tipo de atividade física, mas não regularmente, e que 27,7% exercita-se de acordo com as recomendações (Pratt, Macera & Blanton, 1999).

O efeito térmico do alimento, também conhecido por termogênese de indução dietética, deve-se principalmente aos processos de digestão, absorção e assimilação dos nutrientes, e representa, para uma pessoa ativa, menos de 10% do gasto energético diário (McArdle, Katch & Katch, 1992).

Há diversas pesquisas na literatura

sobre diferentes tratamentos para a obesidade, porém ainda controversas da melhor forma de criação do balanço energético negativo (Cowburn, Hillson & Hankey, 1997). Milhões de indivíduos estão envolvidos em programas de perda de peso, dos quais muitos são ineficientes e com finalidades apenas comerciais. Diante desse quadro, algumas organizações científicas definiram alguns guias com recomendações para os profissionais envolvidos em programas de controle de peso. Segundo Weinsier, Wadden, Ritenbaugh, Harrison, Johnson e Wilmore (1984), a taxa de perda de peso não deve superar 1,5 kg/semana, evitando assim possíveis riscos à saúde, sendo que o ACSM - American College of Sports Medicine (Colégio Americano de Medicina Esportiva) (1983) define esse valor máximo em 1 kg/semana. Porém é importante ressaltar que apenas a perda de peso simplesmente não é o mais indicado no tratamento da obesidade. Como se sabe, a perda de peso desejável é o resultado da máxima redução de gordura corporal e de mínima perda de massa magra, representando sucesso na manutenção do peso perdido, poucos riscos de desnutrição e de complicações médicas (ACSM, 1983).

Assim, esta revisão enfoca como as duas principais formas de tratamento da obesidade, controle alimentar e práticas de atividade física, operam as alterações metabólicas e de composição corporal durante o balanço energético negativo.

Comportamento alimentar

A alimentação é um importante fator tanto na prevenção como no tratamento da obesidade e de muitas doenças de alta prevalência nas sociedades atuais. As tendências de transição nutricional ocorridas neste século em diferentes regiões do mundo convergem para uma dieta mais rica em gorduras (particularmente as de origem animal), açúcares e alimentos refinados (Monteiro, et alii, 1995a). Ao mesmo tempo, essa dieta é reduzida em carboidratos complexos e fibras, sendo conhecida como "dieta ocidental" (Monteiro et alii, 1995a).

Há indícios que o padrão de alimentação hiperlipídica e hipoglicídica esteja se repetindo em nosso país. Estudos realizados com mulheres obesas brasileiras por nosso grupo reforçam esses dados (Francischi, Klopfer, Pereira, Campos, Sawada, Santos, Vieira & Lancha Junior, 1999a; Francischi, Oquendo, Campos, Futigami, Neto & Lancha Junior, 1997; Francischi, Santos, Vieira, Freitas, Klopfer, Pereira, Sawada, Campos

& Lancha Junior, 1999b; Francischi, Santos, Vieira, Klopfer, Freitas, Pereira, Sawada, Campos & Lancha Junior, 1999c; Klopfer, Francischi, Camargo, Vieira, Oquendo, Freitas, Sawada, Campos & Lancha Junior, 1999; Pereira, Francischi, Klopfer, Perroti, Campos, Sawada, Costa & Lancha Junior, 1998) e sugerem que essa pode ser potencialmente uma das causas do rápido incremento de obesidade em nosso país.

Como tratamento, pode-se considerar que o controle alimentar é a principal forma utilizada no combate à obesidade. As estratégias de manipulação dietética geralmente englobam modificações no total energético ingerido e/ou na composição dietética. Quanto ao total energético, duas estratégias comumente utilizadas são o uso das VLCD ("Very Low Calorie Diets" - Dietas de Muito Baixas Calorias), com um consumo energético menor de 800 kcal/dia, e as restrições energéticas moderadas, com um consumo de 1200 kcal/dia ou mais (Cowburn, Hillson & Hankey, 1997). No caso das VLCD, a perda de peso é muito mais rápida, em torno de 1,5-2,5 kg por semana, enquanto na restrição moderada a diminuição é de 0,5-0,6 kg/semana (Cowburn, Hillson & Hankey, 1997). Contudo, o maior problema de dietas muito hipocalóricas concentra-se na dificuldade em manutenção da peso perdido após o término da dieta, o que já tende a ocorrer muito mais facilmente nas restrições moderadas, uma vez que neste caso a perda de peso é gradativa (Cowburn, Hillson & Hankey, 1997). Segundo ACSM (1983), dietas que restringem severamente o consumo energético, bem como jejuns prolongados, são cientificamente indesejáveis e perigosos para a saúde, resultando em perdas de grandes quantidades de água, eletrólitos, minerais, glicogênio e outros tecidos isentos de gordura, com mínima redução de massa adiposa.

Um ponto de grande interesse refere-se não só ao total energético ingerido para redução de gordura corporal, englobando também a composição da dieta. O estudo das relações de equilíbrio energético e seu efeito na etiologia da obesidade, bem como na manutenção do excesso de peso, deve ser considerado. Sabe-se que não só os totais de energia ingerida e gasta regulam a quantidade dos estoques corporais, como proposto por Flatt (1987, 1995) e aceito por muitos autores (Melby, Commerford & Hill, 1998; Prentice, 1998; Swinburn & Ravussin, 1993; Tremblay & Almérás, 1995). O balanço de cada macronutriente parece possuir um rigoroso controle para ajustar seu consumo com sua oxidação (e vice-versa) e manter

um estado de equilíbrio: Flatt (1987) afirma que o balanço de nitrogênio e de carboidratos é facilitado pela capacidade do organismo em ajustar as taxas de oxidação de aminoácidos e de glicose, respectivamente, em relação aos seus consumos alimentares. No caso das gorduras, esse ajuste é bem menos preciso e o aumento no seu consumo não estimula a sua oxidação. Além disso a eficiência com que o lipídeo da dieta é estocado como gordura corporal é alta, cerca de 96% (WHO, 1998). Como o aumento no consumo de gorduras não aumenta sua oxidação, o organismo aumenta os estoques de gordura corporal, sendo que a variação nas quantidades desta está diretamente ligada à oxidação lipídica. Isto leva ao aumento na oxidação de ácidos graxos livres apesar dos mecanismos não estarem claros (WHO, 1998). Como exemplo, um aumento na ingestão lipídica induzirá ao balanço lipídico positivo e, conseqüentemente, ao acúmulo na massa adiposa corporal (Flatt 1987, 1995). Como a gordura corporal aumenta, a oxidação de lipídeos também aumenta. A massa de gordura corporal continuará em expansão até o ponto em que a oxidação desta se iguale a sua ingestão e, então, a quantidade de gordura corporal se estabilizará em um novo nível, mais alto que o anterior (Melby, Commerford & Hill, 1998; WHO, 1998).

Considerando todos esses pontos, a grande maioria dos autores defendem que dietas hipolipídicas são a chave para redução da gordura corporal. No entanto, várias dietas, prometendo rápida perda de peso, incluem baixo consumo de carboidratos. Os efeitos colaterais geralmente associados a tais dietas incluem náuseas, fadigas, hiperuricemia, cetose, aumento nas concentrações plasmáticas de LDL (Weinsier et alii, 1984) e perda de nitrogênio urinário como consequência da degradação de tecidos magros (ACSM, 1983).

Um fato relacionado a dietas hipocalóricas refere-se a mudanças adaptativas em resposta à limitação no consumo energético que objetivam permitir a sobrevivência do organismo frente à restrição alimentar (Shetty, 1990). A medida que o consumo energético é restrito, mudanças na composição corporal reduzem o gasto energético (Shetty, 1990). Essas modificações são muito úteis para períodos de fome intensa, mas correspondem a dificuldades para aqueles que estão em dieta tentando emagrecer (Geliebter, Maher, Gerace, Gutin, Heymsfield & Hashim, 1997), principalmente por serem traduzidas em: a) redução na taxa metabólica basal (TMB) (Ballor, Harvey-Berino, Ades, Cryan & Calles-Escandon,

1996), pela diminuição na massa magra (Ravussin, Burnand, Schutz & Jéquier, 1985); b) redução no custo energético da locomoção, pela queda nas dimensões corporais (Froidevaux, Schutz, Christin & Jéquier, 1993), o que diminui a oxidação de gorduras (Ballor et alii, 1996). A redução na TMB é um dos mais constantes resultados observados durante experimentos com déficit energético, e pode ser resumida em duas diferentes fases. Inicialmente (nas primeiras duas ou três semanas), a redução na TMB não pode ser atribuída a mudanças na composição corporal, e sim devido ao aumento na eficiência do metabolismo dos tecidos ativos; com o prosseguimento da restrição, a queda na TMB ocorre devido a perda destes tecidos ativos, em especial dos tecidos magros (Shetty, 1990).

O estudo realizado por Hill, Sparling, Shields e Heller em 1987 demonstrou que indivíduos sedentários consumindo 800 kcal/dia durante cinco semanas perderam $8.2 \pm 0.5\%$ de seu peso corporal inicial, sendo que $57 \pm 4\%$ desse total perdido foi de gordura e $43 \pm 4\%$ foi de massa magra.

Muitos mecanismos fisiológicos operam na diminuição da atividade metabólica, tais como: diminuição da atividade do sistema nervoso simpático; mudanças periféricas no metabolismo tireoideano; redução na secreção de insulina; mudanças na secreção de glucagon, hormônio de crescimento (GH) e glucocorticóides (Shetty, 1990). Essas mudanças promovem a mobilização de substratos endógenos, conduzindo a maior circulação de ácidos graxos e corpos cetônicos, além de aumentar o catabolismo de proteínas, o que reflete na diminuição do gasto energético (Shetty, 1990).

Todas essas alterações fisiológicas em resposta ao déficit energético podem trazer conseqüências vitais para o organismo. A diminuição nas proporções de tecidos metabolicamente ativos inclui a redução de proteína muscular, como visto anteriormente, ou mesmo a diminuição de proteína hepática (Walberg, 1989). Além disso, alterações mais sérias podem ocorrer no conteúdo de proteínas das fibras musculares cardíacas: exames dos corações de 17 pacientes que morreram após se submeterem a grande redução de peso (mais de 30% do peso inicial) revelaram redução da massa cardíaca e atrofia das fibras musculares desse órgão (Van Itallie & Yang, 1984). Essas pessoas se submeteram a VLCD, composta principalmente por hidrolizado de colágeno, durante dois a oito

mêses. Assim, não há dúvidas que restrições energéticas alteram a massa magra, sendo esses efeitos mais intensos quanto maior for o déficit energético (Sweeney, Hill, Heller, Baney & Digirolamo, 1993) e mais prolongado for o período de tempo de restrição pelo qual o indivíduo foi submetido.

Muitos autores admitem que a incorporação de um programa de atividades físicas podem minimizar e mesmo prevenir essas alterações, principalmente quanto às modificações na composição corporal induzidas pela dieta. As dúvidas surgem principalmente sobre as características (tipo, intensidade e duração) da atividade ideal para pessoas que precisam perder peso.

Exercícios físicos

Recentemente o ACSM publicou um suplemento dedicado inteiramente ao tema Atividade Física na Prevenção e Tratamento da Obesidade e suas Co-morbidades. Entre outras conclusões, o comitê afirmou que as prevalências de sedentarismo estão muito altas, representando um importante papel na etiologia da obesidade, e que os benefícios para a saúde induzidos pelo treinamento regular podem atenuar a morbidade e o risco de mortalidade dos indivíduos obesos (Grundy, Blackburn, Higgins, Lauer, Perri & Ryan, 1999). Como afirmado, o exercício físico regular é de grande relevância na prevenção e tratamento tanto da obesidade como de várias outras doenças, como o diabetes e as doenças cardiovasculares (Dengel, Hagberg, Pratley, Rogus & Goldberg, 1998). Os benefícios podem ser adquiridos geralmente como conseqüências de melhoras cardiorespiratórias (McMurray, Ainsworth, Harrell, Griggs & Williams, 1998), alterações na composição corporal (tais como diminuição de gordura corporal e/ou aumento de massa magra) ou de atividades enzimáticas (como da lipoproteína lipase e lipase hepática) (Després & Lamarche, 1994; Després, Pouliot, Moorjani, Nadeau, Tremblay, Lupien, Thériault & Bouchard, 1991).

Especificamente para a perda de peso, o exercício é importante medida terapêutica na obesidade através da criação de balanço energético negativo (Melby, Scholl, Edwards & Bullough, 1993). Contudo, atingir altos gastos energéticos durante a atividade física requer a capacidade do indivíduo em se exercitar por longos períodos em intensidades próximas ao limiar metabólico, o que somente é possível para pessoas

treinadas (Saris, 1995). O limiar metabólico pode ser entendido como a intensidade de exercício que ocorre predomínio das vias anaeróbias para manutenção da demanda energética. Assim sendo, a dieta isolada é mais eficiente em produzir déficit energético do que o exercício físico isolado (Björntorp, 1995; Saris, 1995).

Propondo um exemplo a partir dos cálculos citados por Björntorp (1995), esse raciocínio fica mais claro: um homem obeso de cerca de 40 anos necessita de aproximadamente de 2500 kcal/dia para manter equilibrado o seu balanço energético. Com um déficit de 1500 kcal/dia, sua ingestão será de 1000 kcal/dia. Durante uma semana, isso representará um déficit de 10500 kcal. Admitindo que 1 kg de gordura equivale a 9000 kcal, teremos que essa pessoa perderá um pouco mais de 1 kg de gordura durante uma semana. Se esse mesmo homem inicia um programa convencional de exercício como três sessões semanais de caminhada ou trote de cerca de 45 minutos cada, temos que o déficit energético será de cerca de 1000 kcal/semana. Isso porque, supondo que ele se exercite em cerca de 50% de seu consumo máximo de oxigênio ($\dot{V}O_2$ máx) durante os 45 minutos, o que caracteriza uma atividade de baixa intensidade, e que seu $\dot{V}O_2$ máx seja aproximadamente 40 ml O_2 /kg/min (apenas um valor médio sugerido para um homem sedentário), ele se exercitará ao redor de 20 ml O_2 /kg/min. Supondo que ele pese cerca de 80 kg, durante 45 min ele terá um consumo de oxigênio de 72 l de O_2 . Admitindo que 1 l O_2 possui em média 5 kcal (McArdle, Katch & Katch, 1992), ele gastará 360 kcal por cada sessão de 45 minutos. Em três sessões semanais, isso representará cerca de 1000 kcal/semana. Ou seja, para ele perder a mesma quantidade de gordura que a dieta induz em uma semana ele precisa se exercitar por nove semanas, ou seja, dois meses. Por esse ângulo, a dieta é muito mais eficiente para induzir um balanço energético negativo do que o exercício físico.

Essa observação fez com que alguns autores desconsiderassem a importância do exercício físico na obesidade (Garrow, 1995). Garrow e Summerbell (1995) em sua meta-análise de 28 publicações com homens e mulheres sobrepesos e obesos, exercitados ou não, encontraram resultados interessantes. As características dos treinamentos físicos empregados variaram em cada estudo analisado, mas a síntese dos resultados indica que as mudanças na

composição corporal induzidas são poucas: homens exercitados aerobiamente por 30 semanas perderam 2,6 kg comparado com ganho de 0,4 kg ocorrido nos sedentários controle; mulheres exercitadas perderam 3 kg em 14 semanas e o grupo controle de sedentárias perdeu 0,7 kg em 11 semanas. Quanto a mudanças na massa magra, esses autores identificaram 21 estudos controlados com grupo dieta + exercício e grupo controle com a mesma dieta, pelo mesmo período de tempo, sem exercício. De fato, a perda de massa magra nos grupos exercitados é menor para uma determinada perda de peso, mas esse valor não é muito diferente: numa perda de 10 kg, a prática de exercícios físicos reduz a perda de massa magra de 2,9 kg para 1,7 kg em homens e de 2,2 kg para 1,7 kg em mulheres. Garrow (1995) afirma que os benefícios do exercício para problemas metabólicos como diabetes ou hiperlipidemia se confundem com os benefícios conseguidos pela concomitante perda de peso. Esse autor conclui que os benefícios do exercício são geralmente supervalorizados, e que provavelmente este tem importante participação apenas quanto à prevenção da obesidade.

Por outro lado, Melby, Commerford & Hill (1998) afirmam que é irreal esperar que um sedentário que inicie um programa de exercícios alcance o mesmo gasto energético induzido pela dieta hipocalórica, mas isto não significa que o exercício desempenhe apenas um impacto marginal na perda de peso a longo prazo. O aumento da prática de atividade física cronicamente significa uma perturbação no equilíbrio do balanço energético e de macronutrientes. O treinamento induz a mudanças adaptativas, como aumento na capacidade de se exercitar em altas intensidades por períodos maiores, além de aumentar a oxidação de gorduras, o que promove a perda gradual de gordura e mantém com sucesso o peso perdido inicialmente alcançado com a dieta hipocalórica (Melby, Commerford & Hill, 1998). De fato, o estudo recente de Nicklas, Rogus e Goldberg (1997) demonstra que o exercício aeróbio combinado à dieta previne o declínio na resposta lipolítica e na oxidação de gorduras que ocorrem com obesos submetidos apenas à dieta. Além disso, Miller, Koceja e Hamilton (1997) concluem em sua meta-análise que, após um ano do final do tratamento, a manutenção do peso perdido em grupos de obesos submetidos à dieta ou à dieta + exercício por 15 semanas é maior no grupo exercitado.

Outro ponto levantado quando se trata de exercícios físicos para redução da obesidade é a compensação energética (Melby, Commerford & Hill, 1998; Saris, 1995): o indivíduo pode compensar o déficit energético induzido pelo exercício aumentando o consumo de alimentos e/ou reduzindo a atividade física realizada diariamente fora dos horários de treinos. Isso pode anular os efeitos benéficos do exercício por interferir em duas partes da equação do balanço energético (Saris, 1995), ou seja, tanto no consumo de alimentos como na atividade física espontânea. Quanto à atividade física diária, dois estudos demonstram que o exercício regular não promoveu compensação energética: van Dale, Schoffelen, ten Hoor e Saris (1989) notaram que o treinamento aeróbio (4 h/semana a 55% $\dot{V}O_2$ máx por 12 semanas) em obesas em dieta hipocalórica estimulou a prática de atividade física durante as partes do dia em que não eram realizados exercícios; do mesmo modo, Racette, Schoeller, Kushner, Neil e Herling-Iaffaldano (1995) observaram manutenção do gasto energético total diário medido através de água marcada em obesas submetidas a dieta + exercício aeróbio (três sessões/semana, 45 min/sessão a 65% $\dot{V}O_2$ máx por 12 semanas), sendo que o grupo controle (apenas dieta) reduziu este gasto em 12,3%. Quanto aos efeitos do exercício sobre o consumo alimentar, sabe-se que há dificuldades metodológicas para medir precisamente a ingestão dos alimentos (Saris, 1995). Contudo, o cuidadoso estudo realizado por Woo, Garrow e Pi-Sunyer (1982) observou que mulheres obesas mantidas em uma "câmara metabólica" não aumentaram o consumo de alimentos em resposta a caminhada com um custo energético calculado para elevar o gasto em 25%.

Porém, a ênfase de muitos estudos não tem sido apenas sobre a ingestão energética em resposta ao exercício, e sim sobre a seleção e o balanço de macronutrientes. Segundo Tremblay e Alméras (1995) se o exercício afeta o metabolismo de proteínas, carboidratos e lipídeos deve interferir também na ingestão alimentar através desses efeitos metabólicos. Teoricamente, afirmam esses autores, as alterações no metabolismo periférico representa sinais integrados para o sistema nervoso central que em última análise controla a fome e a saciedade.

Exercício físico e adaptações metabólicas

Como afirmado anteriormente, o controle do balanço lipídico no organismo é bem menos preciso do que o de carboidratos e proteínas, fazendo com que qualquer impacto do exercício sobre o peso corporal possa ser completamente anulado se o alimento disponível for rico em gorduras. Isso reforça a idéia de que o importante é o balanço de gorduras, e não apenas a sua ingestão ou a sua oxidação separadamente (Melby, Commerford & Hill, 1998). Provavelmente, o alto conteúdo energético associado aos alimentos ricos em lipídeos contribuem para compensar o déficit energético induzido pelo exercício, e a perda de gorduras somente ocorre cronicamente com o exercício se este promover um balanço lipídico negativo (Tremblay & Alméras 1995).

Um efeito que pode facilitar a criação do balanço negativo de gorduras é que possivelmente o exercício por si atue aumentando a preferência pela ingestão de alimentos ricos em carboidratos, tendo em vista que a atividade promove maior captação de glicose circulante, deprimindo as reservas hepáticas. Contudo, esse efeito depende das proporções dos substratos oxidados durante o exercício físico (Tremblay & Alméras, 1995), o qual, bem como o gasto energético, varia de acordo com as características do exercício (intensidade, frequência e duração) e do indivíduo (peso corporal, capacidade aeróbia, etc.) (Melby, Commerford & Hill, 1998).

Principalmente a intensidade e a duração definem a prioridade de substrato a ser oxidado: em baixas intensidades (25% $\dot{V}O_2$ máx) a utilização é principalmente de Ácidos Graxos Livres (AGL); em intensidades moderadas e prolongadas (60-75% $\dot{V}O_2$ máx) o glicogênio muscular é a principal fonte de carboidratos (Romjin, Coyle, Sidossis, Zhang & Wolfe, 1995), sendo que com o prolongamento da atividade aumenta-se a utilização de glicose plasmática, a taxa de utilização das reservas de glicogênio está exponencialmente relacionada com a intensidade do esforço (Hargreaves, 1995). De fato, em altas intensidades (acima de 75% $\dot{V}O_2$ máx) a principal fonte de energia é o glicogênio muscular (Romjin et alii, 1995). A quantidade de carboidratos utilizados dependem também do estado de treinamento do indivíduo (Melby, Commerford & Hill, 1998). Isso porque o treinamento induz adaptações no músculo esquelético que aumentam

a utilização de gorduras e diminui a oxidação de carboidratos (Melby, Commerford & Hill, 1998), visando a economia nas reservas de glicogênio para prolongar o tempo de esforço.

Em sua revisão, Simoneau (1995) cita várias adaptações ao treinamento de resistência ou "endurance" que refletem numa redução do RER (razão de trocas respiratórias) e no conseqüente aumento na utilização de gorduras, tais como: aumento na proporção de fibras musculares tipo I (oxidativas); aumento no tamanho das fibras musculares; aumento nos diâmetros dos capilares; aumento na atividade de enzimas oxidativas; aumento na densidade e volume mitocondrial; aumento na atividade do complexo da carnitina palmitoil transferase; aumento na atividade da lipoproteína lipase. Segundo Henriksson (1992), as adaptações induzidas pelo estímulo crônico da atividade física que facilitam o controle metabólico e o fornecimento mais eficiente de energia são o resultado de uma pronunciada adaptação enzimática e histológica quanto ao tipo de fibra muscular e vascularização.

As altas taxas de oxidação de gorduras resultantes do treinamento promovem menor aumento nas concentrações de AMP (monofosfato de adenosina), ADP (difosfato de adenosina) e Pi (fosfato inorgânico) para um mesmo trabalho submáximo, levando a uma menor estimulação para glicogenólise e glicólise (Melby, Commerford & Hill, 1998). Além disso, Simsolo, Ong e Kern (1993), estudando a regulação pelo exercício da lipoproteína lipase no tecido adiposo e muscular, observaram que o "destreinamento" (a ausência de treinamento) em atletas causa menor atividade muscular dessa enzima e maior atividade no tecido adiposo. Isso sugere preferência pelo estoque de lipídeos dietéticos no tecido adiposo. Pode-se inferir, então, que o treinamento também pode favorecer que tais lipídeos dietéticos sejam transportados preferencialmente para o tecido muscular do que para o tecido adiposo.

De fato, durante o exercício, as duas fontes de gorduras para o tecido muscular são os AGL mobilizados do tecido adiposo e os ácidos graxos (AG) estocados no tecido muscular na forma de triacilgliceróis que devem ser hidrolizados (Melby, Commerford & Hill, 1998). Em condições de repouso ou basais, a maioria dos AG formados serão re-esterificados no mesmo adipócito, enquanto durante exercícios de baixa intensidade a maioria dos AG no plasma será transportada pela albumina até sua absorção

muscular esquelética, sofrendo beta-oxidação (Melby, Commerford & Hill, 1998). Segundo Martin (1997), em exercícios de baixa intensidade (25% $\dot{V}O_2$ máx) a energia é provida principalmente pelos AGL do plasma. Ao redor de 65% $\dot{V}O_2$ máx há utilização de glicogênio muscular e aumento na utilização dos triacilgliceróis intramusculares. Já a 85% $\dot{V}O_2$ máx o “combustível” a ser utilizado predominantemente é o glicogênio muscular. Coyle (1995) afirma que a redução no fluxo sanguíneo para o tecido adiposo durante altas intensidades de exercício pode promover inadequada concentração de albumina necessária para o transporte dos AGL. Apesar da maioria dos estudos sobre utilização e mobilização de substratos durante o exercício serem realizados com atletas, é presumível que para uma mesma intensidade relativa indivíduos não-treinados irão utilizar mais carboidratos e menos lipídeos que os treinados (Melby, Commerford & Hill, 1998).

Apesar dos principais substratos energéticos durante a atividade física serem os carboidratos e os lipídeos, sabe-se que a atividade física tem profundo efeito também sobre o metabolismo de proteínas. Por exemplo, se a musculatura é exercitada intermitentemente contra uma sobrecarga (referido como treinamento de força ou contra-resistência), o resultado após um certo período de treinamento é o efeito anabólico (síntese de massa muscular). Isto ocorre porque o estímulo para a síntese de proteína miofibrilar excede qualquer aumento na degradação de proteínas (Lemon, Tarnopolsky, MacDougall & Atkinson, 1992). Caso a musculatura seja exercitada continuamente numa intensidade mais moderada e por um período de tempo mais prolongado, a quantidade de aminoácidos oxidada para fornecimento energético também é significativa (Lemon et alii, 1992). É importante ressaltar que o aumento na oxidação de aminoácidos durante atividades de “endurance” é diretamente proporcional a intensidade e duração do esforço (Lemon et alii, 1992). No entanto, esse aumento na demanda de proteínas induzido pelo treinamento não ocorre com indivíduos sedentários que iniciam um programa de atividade física, porque o exercício, ao menos inicialmente, não será prolongado ou intenso (Melby, Commerford & Hill, 1998). No caso de treinamento de força, o aumento nessa ingestão acima das recomendações norte-americanas da RDA/NRC (National Research Council, 1989) para o consumo de

proteínas pode ser benéfico (Lemon et alii, 1992). Tendo em vista a cuidadosa regulação no balanço de proteínas apresentado anteriormente (Flatt, 1987), o aumento no consumo de proteínas não promoverá modificações na composição corporal devido ao aumento na massa magra, a não ser que haja estímulo apropriado para a hipertrofia muscular (Melby, Commerford & Hill, 1998). Contudo, é bem possível que o alto consumo de proteínas possa contribuir para o acúmulo de gordura corporal, mas não porque os esqueletos de carbono dos aminoácidos irão favorecer a lipogênese, e sim principalmente porque a oxidação desses aminoácidos pode substituir a porção de gordura normalmente oxidada (Melby, Commerford & Hill, 1998).

Além das adaptações metabólicas durante o treinamento, o exercício também interfere na homeostase durante a fase de sua recuperação, interferindo também sobre o gasto energético pós-exercício. Quanto mais intenso o exercício e por períodos mais prolongados maior será esse gasto (Bahr & Sejersted, 1991; Melby, Commerford & Hill, 1998). Além disso, estudos indicam que o macronutriente a ser oxidado preferencialmente nesta fase é definido também pela intensidade e duração da atividade. Bahr e Sejersted (1991) relataram que o RER pós-exercício é diminuído durante a recuperação, o que provoca maior oxidação de ácidos graxos livres. Phelain, Reinke, Harris e Melby (1997) examinaram os efeitos de exercícios de baixa (50% $\dot{V}O_2$ máx) e alta intensidade (75% $\dot{V}O_2$ máx), com similares gastos energéticos (500 kcal), sobre a oxidação de substratos e o gasto calórico na recuperação. Utilizando calorimetria indireta durante toda a sessão de exercício e em três horas de recuperação, eles notaram que o consumo de oxigênio pós-exercício foi menor após o exercício de alta intensidade. A oxidação de carboidratos total (exercício mais recuperação) foi maior para a atividade mais intensa ($116 \pm 8,6$ g para 50% e $85 \pm 5,2$ g para 75% $\dot{V}O_2$ máx), e o total de oxidação de ácidos graxos livres tendeu a ser menor no exercício de maior intensidade ($36,9 \pm 3,0$ g para 50% e $27,7 \pm 3,3$ g para 75% $\dot{V}O_2$ máx, $p = 0,07$). Contudo, ao final das três horas de recuperação a taxa de oxidação de gorduras foi maior após a sessão mais intensa. Os autores concluem que o período de recuperação deve também ser considerado ao se determinar o efeito de diferentes intensidades de exercício no gasto energético total e na utilização de carboidratos e gorduras como

fonte de energia. De forma oposta, o estudo de Thompson, Townsend, Boughey, Patterson e Bassett Junior (1998) não observou diferenças no uso de substratos após duas diferentes intensidades de exercício (90 minutos a 33% $\dot{V}O_2$ máx ou 45 minutos a 66% $\dot{V}O_2$ máx), sendo que durante a sessão de mais baixa intensidade a utilização de lipídeos foi maior e de carboidratos foi menor, levando os autores a concluir que atividades de baixa intensidade e longa duração resultam em maior oxidação de ácidos graxos do que exercícios de intensidade moderada com mesmo gasto energético.

De fato, ao se tratar do tipo e da intensidade de exercício físico ideal para perda de peso, é bastante duvidoso acreditar que um indivíduo não-treinado seja capaz de sustentar um exercício de alta intensidade pelo período de tempo necessário para produzir uma elevação prolongada no gasto energético pós-exercício, bem como aumento na oxidação de ácidos graxos livres (Melby, Commerford & Hill, 1998). Provavelmente esse é um dos motivos que justifica as recomendações de ACSM (1983, 1998) e Weinsier et alii (1984) apenas de exercícios aeróbios de moderada intensidade (no mínimo a 60% da frequência cardíaca máxima) para perda de peso. Porém, deve-se lembrar dos exercícios de força ou de resistência muscular, os quais são pouco estudados e não se sabe ao certo os efeitos desse tipo de exercício sobre o balanço lipídico. Esse treinamento utiliza como maiores combustíveis para síntese de ATP a fosfocreatina e o glicogênio muscular (Melby, Commerford & Hill, 1998). Contudo, é possível que, durante os períodos de repouso durante as séries de exercício e nos períodos de recuperação pós-exercício, a oxidação de gorduras possa contribuir para atender a demanda energética, indicada por baixos RER após sessões extenuantes desse tipo de atividade (Melby et alii, 1993). Deve-se salientar que um dos aspectos que mais contribui para o baixo RER principalmente na recuperação de atividades intensas é o reabastecimento das reservas de bicarbonato: sua produção metabólica necessita da incorporação de CO_2 (dióxido de carbono) em sua estrutura molecular, resultando em menor VCO_2 (produção de CO_2) e conseqüentemente num menor RER ($RER = \dot{V}O_2 / \dot{V}CO_2$) (Melby, Commerford & Hill, 1998), sugerindo uma falsa idéia de aumento na oxidação de gorduras. Com isso, torna-se difícil quantificar a oxidação lipídica na fase de recuperação do exercício (Melby,

Commerford & Hill, 1998). No entanto, mesmo após 15 horas de extenuante sessão de treinamento de força, o RER mensurado foi inferior ao observado no período controle (sem sessão de atividade física prévia) (Melby et alii, 1993), o que representa maiores taxas de oxidação de ácidos graxos livres no repouso pós-exercício de contra-resistência do que a observada num período de repouso habitual. Dessa forma, os autores concluíram que esta é uma manobra bastante útil do organismo para permitir que o carboidrato disponível seja utilizado para a síntese das novas reservas de glicogênio.

Pode-se perceber que o exercício físico interfere diretamente sobre a oxidação de diferentes macronutrientes dependendo das suas características. Dessa forma, é esperado que exercícios com características distintas tenham efeitos diferentes quanto às alterações na composição corporal. O estudo realizado por Ballor et alii (1996) examinou 18 indivíduos obesos após se submeterem à redução de peso, divididos em grupo de exercício aeróbio (A) e grupo com treinamento de força (WT), medindo composição corporal por pesagem hidrostática e TMR (taxa metabólica de repouso) por espirometria. Após 12 semanas de exercícios físicos, sem dietas, apenas o grupo A apresentou perda de peso, de gordura e aumento no $\dot{V}O_2$ pico. Porém, apenas o grupo WT apresentou tendências em aumento de massa magra e na TMR. Com esses resultados, pode-se perceber que os tecidos magros e gordos respondem de maneira diferente à distintos tipos de treinamento. Então quais devem ser as características de um programa de exercícios físicos para promover as alterações na composição corporal mais desejáveis para aqueles que querem perder peso, isto é, como deve ser a atividade física ideal para intensificar a perda de gordura e minimizar a perda de tecido magro? Além disso, quais são os efeitos combinados da manipulação dietética quanto o total energético ingerido e a composição de macronutrientes sobre as respostas induzidas pelo treinamento na composição corporal?

Exercício físico, comportamento alimentar e alterações na composição corporal

Treinamento de contra-resistência

Há poucos estudos que relacionam os efeitos do treinamento de contra-resistência em

peessoas obesas. De fato, esse tipo de treinamento não é comumente utilizado em programas de redução de peso, já que o custo energético para os tradicionais períodos de atividade é elevado, porém o tempo necessário para a recuperação e execução de nova série de exercícios é bastante alto. Com isso, o consumo energético médio se torna inferior ao observado nas atividades aeróbias. Ballor, Katch, Becque e Marks (1988) mediram o custo energético do treinamento de força em cinco indivíduos obesos por 42 minutos utilizando a calorimetria indireta. De fato, o gasto calórico encontrado para esse período de atividade foi de apenas 139,2 kcal.

Esse tipo de treinamento é geralmente empregado com a finalidade de aumento de força e hipertrofia muscular, sendo que o aumento de massa muscular passa por etapas onde não tem como consequência predominante o aumento da força (Wilmore, 1974). Esse incremento do tecido muscular pode ser importante no aumento da taxa metabólica basal, facilitando a oxidação de gorduras. Porém, foram identificados cinco estudos que analisaram os efeitos do treinamento de força ou contra resistência, sendo que os resultados são bastante díspares:

Ballor et alii (1988) estudaram 40 mulheres obesas por oito semanas, divididas em quatro grupos: controle (C), dieta apenas (déficit de 1000 kcal/dia) (D), treinamento de força apenas (E) e treinamento de força + dieta (ED). As diferenças na composição corporal, determinada por hidrodensitometria, revelaram aumento na massa magra em E (1,07 kg) e manutenção deste tecido em ED. O tecido adiposo sofreu redução apenas em D e ED (de forma semelhante), bem como o peso total. Pode-se concluir que nesse estudo o treinamento de força não intensifica a perda de gordura. Porém, o efeito benéfico ressaltado pelos autores é que esse tipo de exercício aumentou a massa magra na ausência de restrição energética, sendo que na presença da dieta ele preveniu a perda deste tecido. Provavelmente, poderia haver manutenção da TMB no grupo ED, mas se deve ressaltar que não houve medição da TMB nesse estudo.

Donnelly, Pronk, Jacobsen, Pronk e Jakicic (1991) examinaram 69 mulheres obesas por 90 dias em diferentes tipos de exercício: grupo controle realizando apenas a dieta (C), grupo dieta + exercícios de resistência ou "endurance" (EE), grupo dieta + exercícios de força ou sobrecarga (WT), grupo dieta + exercícios de resistência + exercícios de força (EEWT). A dieta aplicada foi

do tipo VLCD, provendo 522 kcal/dia. Houve medição da Taxa Metabólica de Repouso (TMR) por calorimetria indireta e a composição corporal foi determinada também por hidrodensitometria. Os autores perceberam diminuição no tecido magro e na TMR igualmente entre todos os quatro grupos, bem como a perda de massa adiposa e de peso total. Os autores concluíram que a VLCD isolada ou combinada a qualquer um dos tipos de exercícios aplicados por 90 dias promoveu os mesmos efeitos na composição corporal e na TMR. Por esses dados, o treinamento de força sozinho ou combinado com exercícios de resistência não impede a queda na TMR e na massa magra. Provavelmente a alta restrição energética pela qual as voluntárias foram submetidas anulou qualquer efeito que o exercício pudesse apresentar. Os resultados de Sweeney et alii (1993) indicam exatamente isso: restrições energéticas moderadas apresentaram melhores resultados em termos de preservação de massa magra do que a severa por três meses.

Ross, Pedwell e Rissanen (1995) analisaram os efeitos do treinamento de força aliado à restrição energética moderada (déficit de 1000 kcal/dia) em 14 mulheres obesas por 14 semanas. As alterações na composição corporal foram medidas através de imagens por ressonância magnética e revelaram perda de tecido adiposo e nenhuma modificação no tecido magro. A musculatura esquelética dos membros inferiores e superiores foram preservadas. Também houve perda de peso total. Por esses dados, o treinamento de força em combinação com restrição energética moderada preserva a massa magra, em particular a musculatura esquelética, e a adiposidade é substancialmente reduzida.

Geliebter et alii (1997) verificaram em 65 mulheres e homens 20% acima do peso ideal (referido pelos autores a partir dos dados norte-americanos da cia. metropolitana de seguros de vida) os efeitos de dois tipos de treinamentos aliados a dieta por oito semanas. Para isso, os voluntários foram distribuídos em três grupos: dieta apenas (fornecendo o total de energia suficiente para atingir 70% da TMB, valor em média de 1286 ± 281 kcal/dia) (D), dieta + treinamento de força (DF) e dieta + treinamento aeróbio (DA). Também foi utilizada a densitometria por pesagem hidrostática para determinar a composição corporal e a TMR foi medida por calorimetria indireta. Os resultados indicaram que a redução no tecido adiposo e no peso total foi a mesma para todos os grupos, porém

DF perdeu menos massa magra que os outros: do peso total perdido, apenas 8% foi de tecido magro em DF, enquanto em DA 20% do peso perdido era constituído de massa magra e em D esse valor foi 28%. Os autores concluíram que o treinamento de força significativamente diminui a perda de massa magra durante a restrição energética moderada, mas não impede a queda na TMR. O exercício aeróbio aliado a dieta aumenta o $\dot{V}O_2$ máx, mas não intensifica a perda de gordura.

Rice, Janssen, Hudson e Ross (1999) estudaram os efeitos de dieta hipocalórica isolada – deficitária em 1000 kcal/dia (DO) ou aliada a exercício aeróbio (DA) ou de resistência muscular (DR) por 16 semanas em 29 homens obesos. Com metodologias acuradas para determinação de gordura visceral (ressonância magnética) e sensibilidade à insulina (curvas glicêmicas e insulinêmicas), os autores observaram que as reduções no peso, na gordura visceral e subcutânea

foram semelhantes entre os grupos. Porém, a musculatura esquelética não sofreu reduções nos grupos exercitados, o que ocorreu nos obesos que realizaram apenas dieta. As glicemias de jejum e durante o teste de tolerância oral à glicose não se alteraram em nenhum tratamento, porém as insulinemias de jejum e durante o teste diminuíram em todos os grupos após as 16 semanas. A área sob a curva insulinêmica (índice utilizado para determinar a sensibilidade à ação da insulina) apresentou reduções significativamente maiores nos grupos exercitados. Esses dados reforçam a importância durante um programa de redução de peso e gordura corporal da associação entre dieta e exercícios para o metabolismo de carboidratos, porém não apresentam vantagens ou desvantagens de um tipo de exercício específico.

A TABELA 1 resume os cinco trabalhos identificados na literatura com pessoas obesas submetidas ao treinamento de força.

TABELA 1 - Descrição dos principais trabalhos realizados com pessoas obesas submetidas ao treinamento de força.

Estudo	População ¹	Duração ²	Protocolo experimental ³	Resultados			
				PESO	MASSA ADIPOSA	MASSA MAGRA	OUTROS PARÂMETROS
Ballor et alii, 1988	40 obesas (média 32a) ^{**}	8 semanas	4 grupos: <u>Dieta- D</u> (déficit 1000 kcal/d); <u>Trein. Força- F</u> (3 d/sem); <u>Dieta + Trein. Força- D+F</u> ; <u>Controle- C</u>	Redução semelhante em <u>D</u> e <u>D+F</u> . Manutenção em <u>F</u> e <u>C</u> .	Redução semelhante em <u>D</u> e <u>D+F</u> . Manutenção em <u>F</u> e <u>C</u> .	Aumento em <u>Ex</u> e <u>DF</u> . Redução em <u>D</u> .	
Donnelly et alii, 1991	69 obesas ^{**}	90 dias	4 grupos: <u>Dieta- D</u> (~522 kcal/d); <u>Dieta + Ex Aeróbio- DA</u> (4 d/sem; ~45 min/sessão; 70% ⁴ C-reserva); <u>Dieta + Trein. Força- DF</u> (4 d/sem); <u>Dieta + Ex Aeróbio + Trein. Força- DAF</u>	Redução semelhante em todos os grupos	Redução semelhante em todos os grupos	Redução semelhante em todos os grupos	Redução na TMR semelhante em todos os grupos
Ross, et alii, 1995	14 obesas [@]	16 semanas	Treinamento de força (3 d/sem) + Dieta (déficit de 1000kcal/d)	Redução	Redução	Manutenção (principalmente tecido muscular esquelético)	
Geliebter et alii, 1997	65 obesos (19-48a) ^{**}	8 semanas	3 grupos: <u>Dieta- D</u> (1200 kcal/d); <u>Dieta + Ex Aeróbio- DA</u> (3 d/sem; 30 min/sessão; 55% $\dot{V}O_2$ máx); <u>Dieta + Trein. Força- DF</u> (3 d/sem; 60 min/sessão);	Redução semelhante em todos os grupos	Redução semelhante em todos os grupos	Menor redução em <u>DF</u> (8% do peso perdido foi de massa magra em <u>DF</u> , 20% em <u>DA</u> e 28% em <u>D</u>)	Redução na TMR semelhante em todos os grupos. <u>DA</u> aumentou $\dot{V}O_2$ pico
Rice et alii, 1999	29 obesos (homens) [@]	16 semanas	3 grupos: <u>Dieta- D</u> (déficit 1000 kcal/d); <u>Dieta + Ex Aeróbio- DA</u> (3 d/sem; 30 min/sessão; 55% $\dot{V}O_2$ máx); <u>Dieta + Trein. Força- DF</u> (3 d/sem; 60 min/sessão);	Redução semelhante entre os grupos	Tanto o tecido adiposo visceral como subcutâneo reduziram semelhantemente entre os grupos	Musculatura esquelética: Manutenção em <u>DA</u> e <u>DF</u> ; Redução em <u>DO</u>	Glicemias de jejum e durante OGTT ⁵ mantiveram-se inalteradas. Maiores reduções na insulinemia de jejum e durante OGTT ⁶ nos grupos exercitados

¹: a = anos; ²: exatamente como os autores descrevem; ³: kcal/d = kcal/dia; min/sessão = minutos/sessão; d/sem = dias/semana; FC = frequência cardíaca; ⁴: TMR = taxa metabólica de repouso; ⁵: composição corporal determinada por hidrodensitometria; ⁶: composição corporal determinada por ressonância magnética; ⁷: OGTT: teste de tolerância oral à glicose.

Pode-se observar alguns pontos a partir dos estudos apresentados. Quanto à massa magra e a TMR, três estudos revelaram que o treinamento de força preserva o tecido magro em combinação com a restrição moderada em calorias (Ballor et alii, 1988; Rice et alii, 1999; Ross et alii, 1995), um trabalho revelou que esse treinamento combinado a este mesmo tipo de dieta diminui, mas não impede totalmente, a perda de massa magra (Geliebter et alii, 1997) e apenas um trabalho revelou que esse treinamento (isolado ou combinado ao exercício aeróbio) não preserva e nem minimiza a perda de tecido magro em presença de restrição energética severa (Donnelly et alii, 1991). O treinamento de resistência muscular localizada ou de força causa hipertrofia muscular, mesmo durante restrição energética, desde que haja aporte de proteínas dietéticas suficiente para a síntese orgânica de proteínas (Walberg, 1989). A dúvida que permanece é que se há manutenção de massa magra, espera-se que haja manutenção nas taxas metabólicas, o que não ocorreu no trabalho de Geliebter et alii (1997). Contudo, a grande perda de peso e de adiposidade diminuiu o volume e a superfície corporal, o que possivelmente pode atuar na redução da TMR. Provavelmente se o exercício falhasse em preservar o tecido magro essa queda na TMB poderia ser maior ainda. A longo prazo, talvez, essa manutenção na massa magra possa refletir em maior gasto energético, levando a maior facilidade para a redução da obesidade e/ou manutenção do peso perdido.

Quanto às modificações no tecido adiposo, quatro estudos indicaram que esse exercício associado à dieta não intensificou a perda de adiposidade observada com a dieta isolada. Somente Ross et alii (1995) não observaram o mesmo, já que nesse estudo não foi utilizado um grupo controle realizando apenas a dieta. Segundo Ballor et alii (1988) os dois tratamentos (dieta e exercício físico) parecem agir independentemente: o treinamento preserva a massa magra e a restrição energética intensifica a perda de gordura.

Mas será que diferentes tipos e intensidades de exercício não poderiam acelerar a redução da massa adiposa em relação a perda desta induzida apenas pela dieta? E será que esse outro tipo de exercício é capaz também de prevenir o declínio ou mesmo aumentar o tecido magro?

Treinamento aeróbio

Gwinup (1975) foi um dos primeiros a estudar os efeitos do treinamento aeróbio no peso corporal em obesas submetidas a dieta *ad libitum*. Acompanhadas por cerca de um ano e realizando caminhadas, o autor observou perda de peso resultante principalmente da perda de gordura corporal, desde que o tempo de exercício diário não fosse inferior a 30 minutos. Leon, Conrad, Hunninghake e Serfass (1979) também analisaram os efeitos após 16 semanas de um programa vigoroso de caminhada (5 dias/semana, 90 minutos/sessão, a 3,2 mph e 10% inclinação) representando um déficit de 1100 kcal/dia. Os resultados indicaram perda de peso (5,7 kg) e de gordura (5,9 kg), além de melhoras em parâmetros plasmáticos como colesterol, HDL, glicose e insulina.

Pensando em diferentes intensidades de esforço, Ballor, McCarthy e Wilterdink (1990) realizaram um dos trabalhos pioneiros nesse tipo de investigação: acrescentaram à restrição calórica (1200 kcal/dia) duas intensidades diferentes de exercício: baixa (40-50% do $\dot{V}O_2$ máx) e alta (80-90% $\dot{V}O_2$ máx) por 50 e 25 minutos respectivamente, três vezes por semana, por 12 semanas, em 27 mulheres obesas. Os resultados indicaram que ambos grupos perderam peso total, massa adiposa e massa magra (medidas por hidrodensitometria) nas mesmas proporções, sugerindo que a intensidade do exercício não influencia em mudanças na composição corporal.

Parece consenso que o treinamento aeróbio promove perda de tecido adiposo, em presença de restrição energética (Hagan, Upton, Wong & Whittam, 1986; Hill, Schulundt, Sbrocco, Sharp, Pope-Cordle, Stetson, Kaler & Heim, 1989; Hill et alii, 1987; Kempen, Saris & Westerterp, 1995; Molé, Stern, Schultz, Bernauer & Holcomb, 1989; Racette et alii, 1995; Utter, Nieman, Shannonhouse, Butterworth & Nieman, 1998) ou não (Gwinup, 1975; Leon et alii, 1979; Mertens, Kavanagh, Campbell & Shephard, 1998; Pritchard, Newsom & Wark, 1997; Wood, Stefanick, Dreon, Frey-Hewitt, Garay, Williams, Superko, Fortmann, Albers, Vranizan, Ellsworth, Terrey & Haskell, 1988). Todos esses estudos são compostos de exercícios aeróbios estruturados e programados, conforme detalhes na TABELA 2.

TABELA 2 - Descrição dos principais trabalhos realizados com pessoas obesas submetidas ao treinamento aeróbio.

Estudo	População ¹	Duração ²	Protocolo experimental ³	Resultados			
				PESO	MASSA ADIPOSA	MASSA MAGRA	OUTROS PARÂMETROS ⁴
Gwinup, 1975	11 obesas (19-41a)*	1 ano	Caminhada por no mínimo 30 min/d	Redução	Redução	Não mensurada	Aumento de HDL, redução na glicemia e na insulina
Leon et alii, 1975	6 obesos (19-31a)**	16 semanas	Caminhada vigorosa 90 min/d, 5 d/sem	Redução	Redução	Aumento	Aumento no $\dot{V}O_2$ máx em $\underline{Ex}$ e $\underline{D+Ex}$
Hagan et alii, 1986	96 obreiros (33-41a)**	12 semanas	4 grupos: Dieta-D (1200 kcal/d); Exercício-Ex (5 d/sem, 30 min/sessão) Dieta + Exercício-D+Ex; Controle-C	Maior redução em $\underline{D+Ex}$	Maior redução em $\underline{D+Ex}$	Redução semelhante entre $\underline{D}$ e $\underline{D+Ex}$	Redução semelhante entre os grupos na TMR
Hill et alii, 1987	8 obesas (24-46a)**	5 semanas	2 grupos: Dieta-D (800 kcal/d); Dieta+Exercício-D+Ex (caminhada, 5 d/sem)	Redução semelhante entre $\underline{D}$ e $\underline{D+Ex}$	Maior redução em $\underline{D+Ex}$	Maior redução em $\underline{D}$	Aumento de HDL (HDL ₂ e HDL ₃) e redução de triacilgliceróis plasmáticos em $\underline{Ex}$ e $\underline{D}$
Wood et alii, 1988	155 obreiros (120-160% de peso ideal) (30-59a)**	1 ano	3 grupos: Dieta-D; Exercício-Ex (3-5 d/sem; 40-50 min/sessão; 60-80% FCmax); Controle-C	Maior redução em $\underline{D}$ que $\underline{Ex}$	Redução semelhante entre $\underline{D}$ e $\underline{Ex}$	Redução em $\underline{D}$ e manutenção em $\underline{Ex}$	Enquanto sedentários, redução na TMR. Após introdução do exercício, a diminuição na TMR foi revertida
Molé et alii, 1989	5 obreiros (22-52a)**	4 semanas	Dieta (500 kcal/d). Primeiras duas semanas sedentários. Duas semanas seguintes com treinamento (7 d/sem; 30 min/sessão; 60% $\dot{V}O_2$ máx)	Maior redução antes da introdução do exercício	Maior redução após introdução do exercício	Redução enquanto sedentários. Aumento após introdução do treinamento	Redução semelhante entre os grupos na TMR
Hill et alii, 1989	40 obesas (130-160% peso ideal) (33-40a)**	12 semanas	2 grupos: Dieta - D (1220 kcal/d); Dieta+Exercício - D+Ex (5 d/sem; 50 min/sessão; 60-70% FCmax)	Maior redução em $\underline{D+Ex}$	Maior redução em $\underline{D+Ex}$	Redução semelhante entre $\underline{D}$ e $\underline{D+Ex}$	Aumento da atividade física diária em $\underline{D+Ex}$
van Daele et alii, 1989	12 obesas (20-45a)**	12 semanas	2 grupos: Dieta-D (800 kcal/d); Dieta+Exercício - D+Ex (4 d/sem; 60 min/sessão; 55% $\dot{V}O_2$ máx)	Redução semelhante entre $\underline{D}$ e $\underline{D+Ex}$	Redução semelhante entre $\underline{D}$ e $\underline{D+Ex}$	Redução semelhante entre $\underline{D}$ e $\underline{D+Ex}$	Maior aumento de HDL plasmático em homens exercitados que sedentários. Sem alterações em mulheres
Wood et alii, 1991	264 homens e mulheres obreiros (120-150% de peso ideal) (25-49a)**	1 ano	3 grupos: Dieta - D (hipocalórica e reduzida em lipídios); Dieta + Exercício - D+Ex (3 d/sem; 45 min/sessão; 60-80% FCmax); Controle-C	Maior redução em $\underline{D+Ex}$ (homens). Redução semelhante entre $\underline{D}$ e $\underline{Ex+D}$ (mulheres)	Maior redução em $\underline{D+Ex}$ (homens). Redução semelhante entre $\underline{D}$ e $\underline{Ex+D}$ (mulheres)	Não apresentada	Aumento de $\dot{V}O_2$ máx. Redução em insulina, colesterol, LDL e apoB plasmáticos. Aumento de HDL.
Després et alii, 1991	13 obesas pré-menopausa (33-50a)**	14 meses	Exercícios aeróbios, 4-5 d/sem; 90 min/sessão; 55% $\dot{V}O_2$ máx. Dieta ad libitum	Redução	Redução principalmente subcutânea abdominal	Manutenção	

continua

TABELA 2 - Descrição dos principais trabalhos realizados com pessoas obesas submetidas ao treinamento aeróbio (continuação).

Estudo	População ¹	Duração ²	Protocolo experimental ³	Resultados			
				PESO	MASSA ADIPOSITA	MASSA MAGRA	OUTROS PARÂMETROS ⁴
Lamarche et alii, 1992	31 obesas pré-menopausa (25-48 ⁵) ^{**}	6 meses	Exercícios aeróbios, 4-5 d/sem; 90 min/sessão; 55% $\dot{V}O_2$ máx. Dieta ad libitum	Sem alteração	Sem alteração 20 mulheres reduziram e 11 aumentaram	Não apresentada	Aumento no $\dot{V}O_2$ máx, diminuição na insulinaemia, colesterol e LDL plasmáticos
Kemper et alii, 1995	20 obesas (25-50a) ^{**} , [#]	8 semanas	2 grupos: Dieta-D (480-840 kcal/d); Dieta+Exercício - D+Ex (3 d/sem; 90 min/sessão; 50-60% $\dot{V}O_2$ máx)	Redução semelhante entre D e D+Ex	Maior redução em D+Ex	Redução semelhante entre D e D+Ex	Redução semelhante entre os grupos na TMR
Racette et alii, 1995a	23 obesas (21-47a) [#]	12 semanas	2 grupos: Dieta-D (1200 kcal/d); Dieta+Exercício - D+Ex (3 d/sem; 45 min/sessão; 65% $\dot{V}O_2$ máx)	Tendência de maior redução em D+Ex	Maior redução em D+Ex	Não apresentada	Redução semelhante entre os grupos na TMR
Pritchard et alii, 1997	58 sobrepesos de cerca de 40 ^{##}	12 meses	3 grupos: Exercício - Ex (3 d/sem; 30 min/sessão; 65-75%FC máx); Dieta - D (hipocalórica e reduzida em lipídeos); Controle	Maior redução em D que Ex	Maior redução em D que Ex. Em Ex representou 80% do peso perdido	Manutenção em Ex. Redução em D (40% do peso perdido)	Tanto Ex como D perderam gordura abdominal
Mertens et alii, 1998	12 pacientes (ambos sexos) cardíacos sobrepesos e obesos ^{**} (menos de 60a)	12 meses	1 grupo: caminhada diariamente no limiar ventilatório	Redução (4,5 ± 5,7 kg, p < 0,05)	Redução (-2,2 ± 2,5%, p < 0,02)	Tendência de aumento	Aumento de $\dot{V}O_2$ pico e $\dot{V}O_2$ no repouso. Sem alteração no RER (0,83). Tendência de redução em colesterolemia, LDL, triglicérides. Manutenção de HDL
Utter et alii, 1998	91 obesas e sobrepesos ^{**} (25-75a)	12 semanas	4 grupos: Dieta-D (1200 kcal/d); Exercício- Ex (5 d/sem; 45 min/sessão; 60-80% FC máx) Dieta + Exercício- D+Ex; Controle- C. Os grupos D e C realizaram exercícios de alongamento e calistênicos leves a fim de receberem a mesma atenção de E e D+Ex	Redução semelhante em D e Ex+D. Manutenção em C e Ex	Redução semelhante em D e Ex+D. Manutenção em C e Ex	Manutenção em todos os grupos	Redução na relação cintura-quadril semelhante em D e Ex+D. Aumento no $\dot{V}O_2$ máx nos grupos exercitados
Halle et alii, 1999	34 obesas diabéticas tipo 2 (cerca de 45a)	4 semanas	1 grupo: dieta (1000 kcal/d) e exercício (2200 kcal/ semana)	Redução	Não apresentada	Não apresentada	Redução na glicemia e insulinaemia, AGL, colesterolemia, apo B, VLDL, LDL e IDL.

¹: a = anos; ²: exatamente como os autores descrevem; ³: kcal/d = kcal/dia; min/sessão = minutos/sessão; d/sem = dias/semana; FC máx = frequência cardíaca máxima; ⁴: TMR = taxa metabólica de repouso; ⁵: composição corporal determinada por dobrar cutâneas; ⁶: composição corporal determinada por hidrodensitometria; ⁷: composição corporal determinada por água corporal marcada (doubly labeled water method); ⁸: composição corporal determinada por DEXA (dual energy X-ray absorptiometry).

Dentre os estudos apresentados, destaca-se um trabalho recente e original (Andersen, Wadden, Barlett, Zemel, Verde & Franckowiak, 1999) que comparou os efeitos desse tipo de programa de condicionamento com um estilo de vida moderadamente ativo, ambos associados a restrição energética moderada e hipolipídica, em 40 mulheres obesas por 16 semanas, além de realizar um acompanhamento da evolução dessas pessoas ao longo de um ano. Para as modificações no estilo de vida, os voluntários foram orientados para elevar em cerca de 30 minutos as atividades diárias, como caminhar e subir escadas, sendo que esta atividade foi monitorada com acelerômetros tridimensionais que detectavam alterações no custo energético. Os autores observaram semelhantes reduções de peso, porém o grupo exercitado aerobiamente perdeu significativamente menos massa magra. No acompanhamento evolutivo, a recuperação de peso foi menor no grupo com estilo de vida ativo. As reduções nos parâmetros plasmáticos indicativos de risco cardiovascular foram semelhantes entre os grupos. Assim, parece que as melhoras metabólicas e de perda de peso são semelhantes para ambos tipos de atividade física, porém a questão da massa magra mostra uma vantagem do exercício estruturado.

Contudo, muitos estudos ainda apresentam resultados conflitantes quanto aos efeitos do treinamento aeróbio sobre a massa magra. Os estudos de Hill et alii (1989) com mulheres obesas consumindo 1200 kcal/dia por 12 semanas divididas em grupo exercício + dieta e só dieta encontraram menor perda de massa no grupo exercitado. Hill et alii (1987) também observaram esse efeito, como já apresentado anteriormente. No entanto, os dois trabalhos observaram que a TMR (medida por calorimetria indireta) diminuiu igualmente entre os grupos, sugerindo que o exercício não foi eficiente em preservar as taxas metabólicas anteriores à perda de peso. Isso provavelmente ocorreu porque as perdas de peso representam perdas de superfície corporal, mesmo com manutenção de tecido magro, o que leva a diminuição no metabolismo. Assim como nos casos de treinamento de força já discutidos, se houvesse perda de tecido magro provavelmente o declínio na TMR seria ainda maior. Ou ainda a restrição calórica mesmo aliada à atividade intensa favoreceria a ação de hormônios catabólicos determinantes da proteólise e conseqüente redução da massa magra.

Os trabalhos de van Dale et alii (1989), estudando mulheres obesas por 12 semanas submetidas a VLCD, de Hagan et alii (1986), analisando 96 indivíduos obesos consumindo 1200 kcal/dia por 12 semanas e Kempen, Saris e Westerterp (1995) estudando mulheres obesas em VLCD por oito semanas encontraram os mesmos resultados: a perda de massa magra (por pesagem hidrostática) é a mesma para grupos exercitados aerobiamente e sedentários. Quanto às mudanças na TMR os resultados são consensuais tanto por calorimetria indireta (van Dale et alii, 1989) ou por diluição de água marcada (Kempen, Saris & Westerterp, 1995): o declínio na TMR é o mesmo na presença ou não do exercício.

O estudo de Molé et alii (1989) é um dos poucos que sugerem o inverso. Estudando cinco indivíduos obesos consumindo 500 kcal/dia, os autores relataram que o exercício aeróbio é capaz de reverter a queda na TMB (medida por espirometria) induzida pela dieta. Após duas semanas permanecendo sedentários e realizando apenas a dieta, os indivíduos iniciaram um programa de exercícios aeróbios diários pelas duas semanas subseqüentes. Nas primeiras duas semanas houve redução na TMB para 87% do seu valor inicial. No entanto, ao final da quarta semana de estudo, essa queda ocorrida inicialmente foi revertida. Porém, o curto período de tempo de estudo e o número limitado na amostra comprometem os resultados. Os próprios autores questionam qual o período de tempo que a dieta e/ou o exercício podem ser seguramente aplicados, por quanto tempo esses efeitos no metabolismo são mantidos e quais os mecanismos responsáveis por essas alterações induzidas pelo exercício sobre o metabolismo.

A TABELA 2 apresenta a descrição dos principais trabalhos realizados com pessoas obesas submetidas ao treinamento aeróbio, bem como seus resultados. De fato, o treinamento aeróbio não possui efeito de hipertrofia muscular. O estudo realizado por Wilmore, Stanforth, Hudspeth, Gagnon, Daw, Leon, Rao, Skinner e Bouchard (1998) observou que 20 semanas de treinamento aeróbio também não tem efeito sobre a TMR mesmo em presença de aumento no $\dot{V}O_2$ máx ou de pequenas alterações na composição corporal. No entanto, a função deste treinamento no aumento da utilização de gorduras parece ser consenso durante o esforço, sua recuperação ou período total. Já o treinamento de

força não representa aumento na oxidação de gorduras, não tendo efeito direto na redução do tecido adiposo, mas seu efeito em reduzir a perda ou mesmo incrementar o tecido magro é estabelecido. Por que então não combinar os dois tipos de treinamento para o mesmo indivíduo?

Treinamento misto (força e aeróbio)

Esse tipo de investigação foi muito pouco estudada até os dias de hoje. Foram identificados apenas três trabalhos que combinaram em um mesmo grupo o treinamento de força com o exercício aeróbio.

Pavlou, Steffee, Lerman e Burrows (1985) estudaram 72 homens obesos por oito semanas em grupos que combinaram vários tipos de dieta (todas com 800 kcal/dia) com ou sem exercício, o qual correspondia ao treinamento aeróbio com um programa de exercícios calistênicos, ou exercício ativo livre. A composição corporal foi determinada pelo total de potássio no organismo. Apesar da perda de peso total ter sido a mesma para todos os grupos, a presença de exercício intensificou a perda de gordura (as reduções médias $\pm$ desvio-padrão para os dois grupos foram: exercitado: $11,2 \pm 1,5$ kg; sedentário: $5,2 \pm 1,6$ kg) e manteve a massa magra inicial. Também foi observado aumento no $\dot{V}O_2$ máx. e na força no grupo com exercícios. Contudo, não houve medição da TMR, dificultando a conclusão se a preservação da massa magra refletiu em manutenção das taxas metabólicas.

Analisando o tempo de exercício aeróbio combinado ao treinamento de força, Whatley, Gillespie, Honig, Walsh e Blackburn (1994) realizaram um estudo por 12 semanas em

23 mulheres obesas sobre o tempo total de exercícios (200 minutos/semana ou 400 min/semana) combinado a VLCD, comparando com o grupo controle que só realizou a dieta. Houve medição da TMB por calorimetria indireta e da composição corporal por hidrodensitometria. Apesar de todos os grupos perderem massa magra igualmente, a presença tanto de exercício aeróbio prolongado (P) ou por tempo moderado (M) diminuiu o componente de tecido magro da perda de peso total. No grupo controle, 29% do peso perdido foi de massa magra; enquanto em M foi de 18,4% e no P de 19,9%. Todos os grupos diminuíram a TMB nas mesmas proporções, sendo que o grupo controle e o grupo P apresentaram reduções estatisticamente significativas em relação à fase inicial do estudo. Quanto a perda de peso total e massa adiposa, apenas o grupo P apresentou reduções significativas em relação ao controle. Assim, é possível destacar que o tempo de exercício aeróbio aplicado influencia a magnitude da adiposidade a ser perdida, provavelmente por elevar o gasto energético.

O terceiro estudo comparando o treinamento misto foi o desenvolvido por Donnelly et alii (1991), já detalhado anteriormente. Nesse estudo, nenhum tipo de treinamento, nem mesmo o misto, é traduzido em maiores vantagens na composição corporal e na TMR do que a VLCD sozinha. Isso provavelmente devido a magnitude do déficit energético induzido.

A fim de elucidar melhor os resultados obtidos por estes estudos, a TABELA 3 resume as características dos trabalhos com treinamento misto em pessoas obesas.

TABELA 3 - Descrição dos principais trabalhos realizados com pessoas obesas submetidas ao treinamento misto.

Estudo	População ¹	Duração ²	Protocolo experimental ³	Resultados			
				PESO	MASSA ADIPOSITA	MASSA MAGRA	OUTROS PARÂMETROS ⁴
Pavlou et alii, 1985	72 obesos (26-52a) &	8 semanas	2 grupos: Dieta- D (800 kcal/d); Dieta + Ex aeróbio + Trein. Força- D+A+F (3 d/sem; 70-85%FC máx; ~40 min/sessão + exercícios calistênicos)	Redução semelhante entre os grupos	Maior redução em $\frac{D+A+F}{D}$	Manutenção em $\frac{D+A+F}{D}$ Redução em $\frac{D}{D}$	Aumento no VO_2 máx em $\frac{D+A+F}{D}$
Donnelly et alii, 1991	69 obesas ^{**}	90 dias	4 grupos: Dieta- D (522 kcal/d); Dieta + Ex Aeróbio- D+A (4 d/sem; 45 min/sessão; 70%FC reserva); Dieta + Trein. Força- DF (4 d/sem); Dieta + Ex Aeróbio + Trein. Força- DAF	Redução semelhante em todos os grupos	Redução semelhante em todos os grupos	Redução semelhante em todos os grupos	Redução na TMR semelhante em todos os grupos
Whatley et alii, 1994	23 obesas (25-45a) ^{**}	12 semanas	3 grupos: Dieta- D (800 kcal/d); Dieta + Trein. Força (3 d/sem) + 400 min Ex Aeróbio- D+F+400 (5 d/sem; 50-65% FC reserva; 400 min/sem); Dieta + Trein. Força (3 d/sem) + 200 min Ex Aeróbio- D+F+200 (3 d/sem; 50-65% FC reserva; 200 min/sem)	Maior redução em $\frac{D+F+400}{D}$ do que $\frac{D}{D}$. Redução semelhante entre $\frac{D+F+200}{D}$ e $\frac{D}{D}$	Maior redução em $\frac{D+F+400}{D}$ Redução semelhante entre $\frac{D+F+200}{D}$ e $\frac{D}{D}$	Redução semelhante entre os grupos. Em porcentagem de massa magra do peso perdido: $\frac{D}{D}=29\%$; $\frac{D+F+200}{D}=18,4\%$ e $\frac{D+F+400}{D}=19,9\%$	Sem diferença no VO_2 pico. Redução na TMR em $\frac{D}{D}$ e $\frac{D+F+400}{D}$ em relação a fase inicial

¹; a = anos; ²; exatamente como os autores descrevem; ³; kcal/d = kcal/dia; min/sessão = minutos/sessão; d/sem = dias/semana; FC = frequência cardíaca; ⁴; TMR = taxa metabólica de repouso ^{**}; composição corporal determinada por hidrodensitometria; &; composição corporal determinada pelo total de potássio (⁴⁰K)

Como pode-se perceber este é um tema exaustivamente abordado na literatura, desde o final da década de 70 até os dias atuais. Apesar de haver ainda informações contraditórias quanto ao tipo de treinamento ideal, é consenso que os benefícios do treinamento físico regular sobre parâmetros metabólicos e a conseqüente redução na mortalidade são fundamentais na melhora de qualidade de vida das pessoas obesas. De fato, parece que o treinamento não representa alterações muito significativas sobre as taxas de perda de peso, mas possui relevante contribuição na manutenção do peso perdido (Votruba, Horvitz & Schoeller, 2000). Trabalhos recentes enfatizam que

o objetivo primordial de qualquer tratamento para obesidade deve estar centrado em melhoras de qualidade de vida, e não simplesmente na perda de peso (Gaesser, 1999; Lyons & Miller, 1999; Miller, 1999).

Assim, apesar desta melhora na qualidade de vida em resposta a prática regular de atividades físicas ser consenso na literatura, ainda não há conclusões quanto aos efeitos do exercício físico para obesos no tocante às alterações na composição corporal, devido ao baixo número de indivíduos estudados e diferentes protocolos de estudo.

ABSTRACT

EXERCISE, FOOD INTAKE AND OBESITY: REVIEW ON BODY COMPOSITION AND METABOLIC EFFECTS

This paper reviews the two main non-pharmacological strategies for overweight and obesity treatment: energy restriction and physical activity. Hypocaloric diets are effective for weight and fat reductions, however diets can lead to fat-free mass losses and consequently reductions in basal metabolic rates. Physical activity alone induces lower weight losses than diet by itself. In association with nutritional control, physical activities program facilitates diet compliance and weight maintenance. Many authors believe that regular aerobic training maximizes fat losses, but it does not avoid fat free mass decreases. Weight training seems to minimize this effect, but there are some results showing no intensification in fat weight reduction. Both types of training in association can induce to a concomitant fat weight reductions and fat free mass maintenance, although only a few studies have shown these results. Metabolic adaptations seem to occur in response to both types- of training and there is agreement in literature that regular physical training causes quality of life improvements. However no conclusions were made about physical exercise and body composition alterations in obese subjects, due to low number of subjects and different types of intervention protocol.

UNITERMS: Obesity; Physical activity; Diet; Body composition.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMERICAN COLLEGE OF SPORTS MEDICINE (ACSM). Position stand: proper and improper weight loss programs. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, Madison, v.15, p.9-13, 1983.
- _____. Position stand: the recommended quantity and quality of exercise for developing and maintaining cardiorespiratory and muscular fitness, and flexibility in healthy adults. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, Madison, v.30, p.975-91, 1998.
- ANDERSEN, R.E.; WADDEN, T.A.; BARLETT, S.J.; ZEMEL, B.; VERDE, T.J.; FRANCKOWIAK, S.C. Effects of lifestyle activity vs structured aerobic exercise in obese women: a randomized trial. *Journal of American Medical Association*, Chicago, v.27, p.335-40, 1999.
- BAHR, R.; SEJERSTED, O.M. Effect of exercise on excess postexercise O₂ consumption. *Metabolism*, Philadelphia, v.40, p.836-41, 1991.

- BALLOR, D.L.; HARVEY-BERINO, J.R.; ADES, P.A.; CRYAN, J.; CALLES-ESCANDON, J. Contrasting effects of resistance and aerobic training on body composition and metabolism after diet-induced weight loss. *Metabolism*, Philadelphia, v.45, p.179-83, 1996.
- BALLOR, D.L.; KATCH, V.L.; BECQUE, M.D.; MARKS, C.R. Resistance weight training during caloric restriction enhances lean body weight maintenance. *American Journal of Clinical Nutrition*, Bethesda, v.47, p.19-25, 1988.
- BALLOR, D.L.; MCCARTHY, J.P.; WILTERDINK, E.J. Exercise intensity does not affect the composition of diet-and exercise-induced body mass loss. *American Journal of Clinical Nutrition*, Bethesda, v.51, p.142-6, 1990.
- BJÖRNTORP, P. Evolution of the understanding of the role of exercise in obesity and its complications. *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders*, London, v.19, p.S1-S4, 1995.
- COYLE, E.F. Substrate utilization during exercise in active people. *American Journal of Clinical Nutrition*, Bethesda, v.61, p.968S-79S, 1995.
- COWBURN, G.; HILLSDON, M.; HANKEY, C.R. Obesity management by life-style strategies. *British Medical Bulletin*, Oxford, v.53, p.389-408, 1997.
- DENGEL, D.R.; HAGBERG, J.M.; PRATLEY, R.E.; ROGUS, E.M.; GOLDBERG, A.P. Improvements in blood pressure, glucose metabolism, and lipoprotein lipids after aerobic exercise plus weight loss in obese, hypertensive middle-aged men. *Metabolism*, Philadelphia, v.47, p.1075-82, 1998.
- DESPRÉS, J.P.; LAMARCHE, B. Low intensity endurance exercise training, plasma lipoprotein and the risk of coronary heart disease. *Journal of Internal Medicine*, Oxford, v.236, p.7-22, 1994.
- DESPRÉS, J.P.; POULIOT, M.C.; MOORJANI, S.; NADEAU, A.; TREMBLAY, A.; LUPIEN, P.J.; THÉRIAULT, G.; BOUCHARD, C. Loss of abdominal fat and metabolic response to exercise training in obese women. *American Journal of Physiology*, Bethesda, v.261, p.E159-E167, 1991.
- DONNELLY, J.E.; PRONK, N.P.; JACOBSEN, D.J.; PRONK, S.J.; JAKICIC, J.M. Effects of a very-low-calorie diet and physical-training regimens on body composition and resting metabolic rate in obese females. *American Journal of Clinical Nutrition*, Bethesda, v.54, p.56-61, 1991.
- FLATT, J.P. Dietary fat, carbohydrate balance, and weight maintenance: effects of exercise. *American Journal of Clinical Nutrition*, Bethesda, v.45, p.296-306, 1987.
- _____. Use and storage of carbohydrate and fat. *American Journal of Clinical Nutrition*, Bethesda, v.61, p.952S-9S, 1995.
- FRANCISCHI, R.P.; KLOPPER, M.; PEREIRA, L.O.; CAMPOS, P.L.; SAWADA, L.A.; SANTOS, R.; VIEIRA, P.; LANCHÁ JUNIOR, A.H. Efeito da intensidade da atividade física e da dieta hipocalórica sobre consumo alimentar, a composição corporal e a colesterolemia em mulheres obesas. *Revista Brasileira de Nutrição Clínica*, São Paulo, v.14, p.1-8, 1999a.
- FRANCISCHI, R.P.; OUENDO, L.; CAMPOS, P.L.; FUTIGAMI, S.; NETO, S.R.C.; LANCHÁ JUNIOR, A.H. Physical activity and nutritional control features an treatment of obesity in Brazilian women. In: INTERNATIONAL CONFERENCE OF BIOCHEMISTRY OF EXERCISE, 10., 1997, Sydney. *Poster Abstracts...* Sydney, 1997. p.40.
- FRANCISCHI, R.P.; SANTOS, R.C.; VIEIRA, P.; FREITAS, C.S.; KLOPPER, M.; PEREIRA, L.O.; SAWADA, L.A.; CAMPOS, P.L.; LANCHÁ JUNIOR, A.H. Effects of exercise on dietary composition, metabolism and body composition of Brazilian obese women. *Scandinavian Journal of Nutrition*, v.43 p.40S, 1999b. Supplement 34.
- FRANCISCHI, R.P.; SANTOS, R.C.; VIEIRA, P.; KLOPPER, M.; FREITAS, C.; PEREIRA, L.; SAWADA, L.; CAMPOS, L.; LANCHÁ JUNIOR, A.H. Composição corporal, distribuição de gordura e glicemia basal em obesas: efeitos da dieta e/ou exercício moderado. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL CORPUS LIGHT DE OBESIDADE E ATIVIDADE FÍSICA, 1., 1998, São Paulo. *Revista Nutrivitae*, v.2, p.7-8, 1999c. Suplemento 1.
- FROIDEVAUX, F.; SCHUTZ, Y.; CHRISTIN, L.; JÉQUIER, E. Energy expenditure in obese women before and during weight loss, after refeeding, and in the weight-relapse period. *American Journal of Clinical Nutrition*, Bethesda, v.57, p.35-42, 1993.
- GAESSER, G.A. Thinness and weight loss: beneficial or detrimental to longevity. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, Madison, v.31, p.1118-28, 1999.
- GARROW, J.S. Exercise in the treatment of obesity: a marginal contribution. *International Journal of Obesity*, London, v.19, p.S126-S129, 1995.
- GARROW, J.S.; SUMMERBELL, C.D. Meta-analysis: effect of exercise, with or without dieting, on the body composition of overweight subjects. *European Journal of Clinical Nutrition*, London, v.49, p.1-10, 1995.
- GELIEBTER, A.; MAHER, M.M.; GERACE, L.; GUTIN, B.; HEYMSFIELD, S.B.; HASHIM, S.A. Effects of strength or aerobic training on body composition, resting metabolic rate, and peak oxygen consumption in obese dieting subjects. *American Journal of Clinical Nutrition*, Bethesda, v.66, p.557-63, 1997.

- GRUNDY, S.M.; BLACKBURN, G.; HIGGINS, M.; LAUER, R.; PERRI, M.G.; RYAN, D. Physical activity in the prevention and treatment of obesity and its comorbidities: evidence report of independent panel to assess the role of physical activity in the treatment of obesity and its comorbidities. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, Madison, v.31, p.S502-S508, 1999. Supplement.
- GWINUP, G. Effect of exercise alone on the weight of obese women. *Archives of Internal Medicine*, Chicago, v.135, p.676-80, 1975.
- HAGAN, R.D.; UPTON, S.J.; WONG, L.; WHITTAM, J. The effects of aerobic conditioning and/or caloric restriction in overweight men and women. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, Madison, v.80, p.87-94, 1986.
- HALLE, M.; BERG, A.; GARWERS, U.; BAUMSTARK, M.W.; KNISEL, W.; GRATHWOHL, D.; KÖNIG, D.; KEUL, J. Influence of 4 weeks' intervention by exercise and diet on low-density lipoprotein subfractions in obese men with type 2 diabetes. *Metabolism*, Philadelphia, v.48, p.641-4, 1999.
- HARGREAVES, M. Skeletal muscle carbohydrate metabolism during exercise. In: HARGREAVES, M. (Ed.). *Exercise metabolism*. Champaign: Human Kinetics, 1995. p.41-72.
- HENRIKSSON, J. Effects of physical training on the metabolism of skeletal muscle. *Diabetes Care*, New York, v.15, p.1701-11, 1992.
- HILL, J.O.; DROUGAS, H.; PETERS, J.C. Obesity treatment: can diet composition play a role? *Annals of Internal Medicine*, Philadelphia, v.119, n.7, Pt.2, p.694-7, 1993.
- HILL, J.O.; SCHULUNDT, D.G.; SBROCCO, T.; SHARP, T.; POPE-CORDLE, J.; STETSON, B.; KALER, M.; HEIM, C. Evaluation of an alternating-calorie diet with or without exercise in the treatment of obesity. *American Journal of Clinical Nutrition*, Bethesda, v.50, p.248-54, 1989.
- HILL, J.O.; SPARLING, P.B.; SHIELDS, T.W.; HELLER, P.A. Effects of exercise and food restriction on body composition and metabolic rate in obese women. *American Journal of Clinical Nutrition*, Bethesda, v.46, p.622-30, 1987.
- KARHUNEN, L.; FRANSILA-KALLUNKI, A.; RISSANEN, A.; KERVINEN, K.; KESÄNIEMI, Y. A.; UUSITUPA, M. Determinants of resting energy expenditure in obese non-diabetic caucasian women. *International Journal of Obesity*, London, v.21, p.197-202, 1997.
- KEMPEN, K.P.G.; SARIS, W.H.M.; WESTERTEP, K.R. Energy balance during an 8-wk energy-restricted diet with and without exercise in obese women. *American Journal of Clinical Nutrition*, Bethesda, v.62, p.722-9, 1995.
- KLOPPER, M.; FRANCISCHI, R.; CAMARGO, R.; VIEIRA, P.; OQUENDO, L.; FREITAS, C.S.; SAWADA, L.; CAMPOS, P.; LANCHÁ JUNIOR, A.H. Moderate energy restriction with or without aerobic exercise: a comparison of three methods. In: DIET AND THE METABOLIC SYNDROME - INTERNATIONAL SYMPOSIUM, 1999, Ystad. *Annals...* Ystad: Swedish Nutrition Foundation; 1999. p.65.
- LAMARCHE, B.; DESPRÉS, J.P.; POULIOT, M.C.; MOORJANI, S.; LAPIEN, P.J.; THÉRIAULT, G.; TREMBLAY, A.; NADEAU, A.; BOUCHARD, C. Is body fat loss a determinant factor in the improvement of carbohydrate and lipid metabolism following aerobic exercise training in obese women? *Metabolism*, Philadelphia, v.41, p.1249-56, 1992.
- LEMON, P.W.R.; TARNOPOLSKY, M.A.; MACDOUGALL, J.D.; ATKINSON, S.A. Protein requirements and muscle mass / strength changes during intensive training in novice bodybuilders. *Journal of Applied Physiology*, Bethesda, v.73, p.767-75, 1992.
- LEON, A.S.; CONRAD, J.; HUNNINGHAKE, D.B.; SERFASS, R. Effects of a vigorous walking program on body composition, and carbohydrate and lipid metabolism of obese young men. *American Journal of Clinical Nutrition*, Bethesda, v.33, p.1776-87, 1979.
- LYONS, P.; MILLER, W.C. Effective health promotion and clinical care for large people. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, Madison, v.31, p.1141-6, 1999.
- MARDLE, W.D.; KATCH, F.I.; KATCH, V.L. *Fisiologia do exercício: energia, nutrição e desempenho humano*. Trad. de G. Taranto. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992.
- McMURRAY, R. G.; AINSWORTH, B. A.; HARRELL, J. S.; GRIGGS, T. R.; WILLIAMS, O. D. Is physical activity or aerobic power more influential on reducing cardiovascular disease risk factors? *Medicine and Science in Sports and Exercise*, Madison, v.30, p.1521-9, 1998.
- MARTIN, W.H. Effect of endurance training on fatty acid metabolism during whole body exercise. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, Madison, v.29, p.635-9, 1997.
- MELBY, C.L.; COMMERFORD, S.R.; HILL, J.O. Exercise, macronutrient balance, and weight control. In: LAMB, D.R.; MURRAY, R. *Perspectives in exercise science and sports medicine: exercise, nutrition, and weight control*. Carmel: Cooper Publ. Group, 1998. v.11, p.1-60.
- MELBY, C.L.; SCHOLL, C.; EDWARDS, G.; BULLOUGH, R. Effect of acute resistance exercise on post exercise energy expenditure and resting metabolic rate. *Journal of Applied Physiology*, Bethesda, v.75, p.1847-53, 1993.

- MERTENS, D.J.; KAVANAGH, T.; CAMPBELL, R.B.; SHEPARD, R.J. Exercise without dietary restriction as a means to long-term fat loss in the obese cardiac patient. *Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*, Turin, v.38, p.310-6, 1998.
- MILLER, W.C. How effective are traditional dietary and exercise intervention for weight loss? *Medicine and Science in Sports and Exercise*, Madison, v.31, p.1129-34, 1999.
- MILLER, W.C.; KOCEJA, D.M.; HAMILTON, E.J. A meta-analysis of the past 25 years of weight loss research using diet, exercise or diet plus exercise intervention. *International Journal of Obesity*, London, v.21, p.941-7, 1997.
- MOLÉ, P.A.; STERN, J.S.; SCHULTZ, C.L.; BERNAUER, E.M.; HOLCOMB, B.J. Exercise reverses depressed metabolic rate produced by severe caloric restriction. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, Madison, v.21, p.29-33, 1989.
- MONTEIRO, C.A.; MONDINI, L.; SOUZA, A.L.M.; POPKIN, B.M. Da desnutrição para a obesidade: a transição nutricional no Brasil. In: MONTEIRO, C.A. *Velhos e novos males da saúde no Brasil: a evolução do país e de suas doenças*. São Paulo: Hucitec-NUPENS/USP, 1995a. p.247-55.
- _____. The nutrition transition in Brazil. *European Journal of Clinical Nutrition*, Basingstoke, v.49, p.105-13, 1995b.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (U.S.) Subcommittee on the Tenth Edition of the RDA's. *Recommended Dietary Allowances*, 10th. ed. Washington: National Academy, 1989.
- NICKLAS, B.J.; ROGUS, E.M.; GOLDBERG, A.P. exercise blunts declines in lipolysis and fat oxidation after dietary-induced weight loss in obese older women. *American Journal of Physiology*, Bethesda, v.273, p. E149-55, 1997.
- PAVLOU, K.N.; STEFFEE, W.P.; LERMAN, R.H.; BURROWS, B.A. Effects of dieting and exercise on lean body mass, oxygen uptake, and strength. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, Madison, v.17, p.466-71, 1985.
- PEREIRA, L.O.; FRANCISCHI, R.P.; KLOPFER, M.; PERROTI, A.C.; CAMPOS, P.L.; SAWADA, L.A.; COSTA, S.R.; LANCHI JUNIOR, A.H. Different intensities of physical activities with or without hypocaloric diet: effects on body composition, food consumption and plasmatic profile in obese women. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, Madison, v.30, p.S238, 1998.
- PHELAIN, J.F.; REINKE, E.; HARRIS, M.A.; MELBY, C.L. Post exercise energy expenditure and substrate oxidation in young women resulting from exercise bouts of different intensity. *Journal of American College of Nutrition*, Brooklyn, v.16, p.140-6, 1997.
- POEHLMAN, E.T. Energy expenditure and requirement in aging humans. *Journal of Nutrition*, Bethesda, v.122, p.2057-65, 1992.
- POPKIN, B.M.; DOAK, C.M. The obesity epidemic is a worldwide phenomenon. *Nutrition Reviews*, Washington, v.56, p.106-14, 1998.
- PRATT, M.; MACERA, C.A.; BLANTON, C. Levels of physical activity and inactivity in children and adults in the United States: current evidence and research issues. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, Madison, v.31, p.S526-33, 1999. Supplement.
- PRENTICE, A.M. Manipulation of dietary fat and energy density and subsequent effects on substrate flux and food intake. *American Journal of Clinical Nutrition*, Bethesda, v.67, p.535S-41S, 1998. Supplement.
- PRITCHARD, J.E.; NOWSON, C.A.; WARK, J.D. A worksite program for overweight middle-aged men achieves lesser weight loss with exercise than with diet change. *Journal of American Dietetic Association*, Chicago, v.97, p.37-42, 1997.
- RACETTE, S.B.; SCHOELLER, D.A.; KUSHNER, R.F.; NEIL, K.M.; HERLING-IAFFALDANO, K. Effects of aerobic exercise and dietary carbohydrate on energy expenditure and body composition during weight reduction in obese women. *American Journal of Clinical Nutrition*, Bethesda, v.61, p.486-94, 1995.
- RAVUSSIN, E.; BURNAND, B.; SCHUTZ, Y.; JÉQUIER, E. Energy expenditure before and during energy restriction in obese patients. *American Journal of Clinical Nutrition*, Bethesda, v.41, p.753-9, 1985.
- RAVUSSIN, E.; SWINBURN, B.A. Pathophysiology of obesity. *Lancet*, London, v.340, p.404-8, 1992.
- RICE, B.; JANSSEN, I.; HUDSON, R.; ROSS, R. Effects of aerobic or resistance exercise and/or diet on glucose tolerance and plasma insulin levels in obese men. *Diabetes Care*, Alexandria, v.22, p.684-91, 1999.
- ROMJIN, J.A.; COYLE, E.F.; SIDOSSIS, L.S.; ZHANG, X.J.; WOLFE, R.R. Relationship between fatty acid delivery and fatty acid oxidation during strenuous exercise. *Journal of Applied Physiology*, Bethesda, v.79, p.1939-45, 1995.
- ROSS, R.; PEDWELL, H.; RISSANEN, J. Response of total and regional lean tissue and skeletal muscle to a program of energy restriction and resistance exercise. *International Journal of Obesity*, London, v.19, p.781-7, 1995.
- SARIS, W.H.M. Exercise with or without dietary restriction and obesity treatment. *International Journal of Obesity*, London, v.19, p.S113-S116, 1995.
- SHETTY, P.S. Physiological mechanisms in the adaptive response of metabolic rates to energy restriction. *Nutrition Research Reviews*, Cambridge, v.3, p.49-74, 1990.

- SIMONEAU, J.A. Adaptation of human skeletal muscle to exercise-training. *International Journal of Obesity*, London, v.19, p.S9-S13, 1995.
- SIMSOLO, R.B.; ONG, J.M.; KERN, P.A. The regulation of adipose tissue and muscle lipoprotein lipase in runners by detraining. *Journal of Clinical Investigation*, Ann Arbor, v.92, p.2124-30, 1993.
- SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA (SBC). Programa nacional de prevenção e epidemiologia. Disponível em: <www.cardiol.br/epidemio.htm>. Acesso em: 14 abr. 1999a.
- _____. Exercício anti-sedentarismo/obesidade. Disponível em: <www.cardiol.br/exerc.htm>. Acesso em: 14.abr.1999b.
- SWEENEY, M.E.; HILL, J.O.; HELLER, P.A.; BANEY, R.; DIGIROLAMO, M. Severe vs moderate energy restriction with and without exercise in the treatment of obesity: efficiency of weight loss. *American Journal of Clinical Nutrition*, Bethesda, v.57, p.127-34, 1993.
- SWINBURN, B.; RAVUSSIN, E. Energy balance or fat balance? *American Journal of Clinical Nutrition*, Bethesda, v.57, p.766S-71S, 1993. Supplement.
- THOMPSON, D.L.; TOWNSEND, K.M.; BOUGHEY, R.; PATTERSON, K.; BASSETT JUNIOR, D.R. Substrate use during and following moderate and low-intensity exercise: implications for weight control. *European Journal of Applied Physiology*, Berlin, v.78, p.43-9, 1998.
- TREMBLAY, A.; ALMÉRAS, N. Exercise, macronutrient preferences and food intake. *International Journal of Obesity*, London, v.19, p.S97-S101, 1995.
- UTTER, A.C.; NIEMAN, D.C.; SHANNONHOUSE, E.M.; BUTTERWORTH, D.E.; NIEMAN, C.N. Influence of diet and/or exercise on body composition and cardiorespiratory fitness in obese women. *International Journal of Sports Nutrition*, Schorndorf, v.8, p.213-22, 1998.
- Van DALE, D.; SCHOFFELEEN, P.F.M.; ten HOOR, F.; SARIS, W.H.M. Effects of addition of exercise to energy restriction on 24-hour energy expenditure, sleeping metabolic rate and daily physical activity. *European Journal of Clinical Nutrition*, Basingstoke, v.43, p.441-51, 1989.
- Van ITALLIE, T.B.; YANG, M. Cardiac dysfunction in obese dieters: a potentially lethal complication of rapid, massive weight loss. *American Journal of Clinical Nutrition*, Bethesda, v.39, p.695-702, 1984.
- VOTRUBA, S.B.; HORVITZ, M.A.; SCHOELLER, D.A. The role of exercise in the treatment of obesity. *Nutrition*, New York, v. 16, p.179-88, 2000.
- WALBERG, J.L. Aerobic exercise and resistance weight training during weight reduction. Implications for obese persons and athletes. *Sports Medicine*, Auckland, v.7, p.343-56, 1989.
- WEINSIER, R.L.; WADDEN, T.A.; RITENBAUGH, C.; HARRISON, G.G.; JOHNSON, F.S.; WILMORE J.H. Recommended therapeutic guidelines for professional weight control programs. *American Journal of Clinical Nutrition*, Bethesda, v.40, p.865-872, 1984.
- WHATLEY, J.E.; GILLESPIE, W.J.; HONIG, J.; WALSH, M.L.; BLACKBURN, A.L. Does the amount of endurance exercise in combination with weight training and a very-low-energy diet affect resting metabolic rate and body composition? *American Journal of Clinical Nutrition*, Bethesda, v.59, p.1088-92, 1994.
- WILMORE, J.H. Alterations in strength, body composition and anthropometric measurements consequent to a 10-week weight training program. *Medicine and Science in Sports*, Madison, v.6, p.133-8, 1974.
- WILMORE, J.H.; STANFORTH, P.R.; HUDSPETH, L.A.; GAGNON, J.; DAW, E.W.; LEON, A.S.; RAO, D.C.; SKINNER, J.S.; BNOUCHARD, C. Alterations in resting metabolic rate as a consequence of 20 wk of endurance training: the HERITAGE family study. *American Journal of Clinical Nutrition*, Bethesda, v.68, p.66-71, 1998.
- WOO, R.; GARROW, J.S.; PI-SUNIER, F.X. Voluntary food intake during prolonged exercise in obese women. *American Journal of Clinical Nutrition*, Bethesda, v.36, p.478-84, 1982.
- WOOD, P.D.; STEFANICK, M.L.; DREON, D.M.; FREY-HEWITT, B.; GARAY, S.C.; WILLIAMS, P.T.; SUPERKO, H.R.; FORTMANN, S.P.; ALBERS, J.J.; VRANIZAN, K.M.; ELLSWORTH, N.M.; TERRY, R.B.; HASKELL, W.L. Changes in plasma lipids and lipoproteins in overweight men during weight loss through dieting as compared with exercise. *New England Journal of Medicine*, Waltham, v.319, p.1173-9, 1988.
- WOOD, P.D.; STEFANICK, M.L.; WILLIAMS, P.T.; HASKELL, W.L. The effects on plasma lipoproteins of a prudent weight-reducing diet, with or without exercise, in overweight men and women. *New England Journal of Medicine*, Waltham, v.325, p.461-6, 1991.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Obesity: preventing and managing the global epidemic. Geneva: 1998. (Report of a WHO Consultation on Obesity).

AGRADECIMENTOS

A Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo apoio financeiro e viabilizando este estudo; e a todos da equipe do Laboratório de Nutrição e Metabolismo Aplicado à Atividade Motora que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

Recebido para publicação em: 20 set. 2000

Revisado em: 13 ago. 2001

Aceito em: 13 mar. 2002

ENDEREÇO: Rachel P. Francischi

EEFEUSP

Lab. Nutrição e Metabolismo Aplicado a Ativ. Motora

Av. Prof. Mello Moraes, 65

05508-900 - São Paulo - SP - BRASIL

e-mail: racnutri@hotmail.com

Apêndice 3

Dietas hiperlipídicas e frequência alimentar: efeitos sobre as reservas lipídicas em ratos*

Título abreviado para legenda: frequência alimentar e dieta hiperlipídica

Autores:

Rachel Pamfilio Francischi¹

Luciana Oquendo Pereira¹

Patricia Lopes Campos²

Letícia Sawada³

André dos Santos Costas³

Hamilton Augusto Silva Roschel¹

Marcelo Marquezi²

Fernanda Baptista Scagliusi⁴

Perla Menezes Pereira⁴

Antonio Herbert Lancha Junior⁵

Autor responsável: Rachel Pamfilio Francischi (Endereço para correspondência: Rua Orlando Murgel, 472. São Paulo – SP CEP: 04358-090. e-mail: racnutri@hotmail.com)

*: Resultados apresentados parcialmente no VI Congresso da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição (SBAN). 2001 set 15-19; Florianópolis, Brasil. (premiação de terceiro melhor trabalho apresentado no congresso)

1: Mestranda(o) em Biologia Funcional e Molecular do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas (IB-UNICAMP)

2: Doutoranda (o) em Biologia Funcional e Molecular do IB-UNICAMP

3: Mestre em Biodinâmica do Movimento do Corpo Humano pela Escola de Educação Física e Esporte da Universidade de São Paulo (EEFE-USP)

4: Graduanda em Nutrição da Faculdade de Saúde Pública da USP e aluna de Iniciação Científica da EEFE-USP;

5: Professor Livre-docente da EEFE-USP;

Agradecimentos

Os autores agradecem à Fapesp (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) pelo apoio financeiro nas bolsas de Doutorado (Marcelo Luis Marquesi), Mestrado (Rachel Pamfílio Francischi, Luciana Oquendo Pereira, Hamilton Augusto Silva Roschel) e Iniciação Científica (Fernanda Baptista Scagliusi);

ao Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo pelo apoio na formulação da ração hiperlipídica;

e a todos os colegas do Laboratório de Nutrição e Metabolismo Aplicado à Atividade Motora que participaram direta ou indiretamente na execução deste projeto.

1) Introdução

As doenças crônico-degenerativas constituem em nosso país e no mundo um dos principais agravantes da saúde. O índice de mortalidade por doença cardiovascular no Brasil é de 820 óbitos por dia e 42% dos adultos brasileiros possuem hipercolesterolemia (SBC, 1999). No Brasil as prevalências de diabetes mellitus são igualmente altas comparadas às de nações desenvolvidas (OLIVEIRA *et al.*, 1996).

Hábitos da cultura moderna foram identificados como potenciais fatores de risco para tais doenças, tais como alimentação inadequada (KERWICK e PAWAN, 1966; SEIDELL, 1999; WHO, 1998), excesso de gordura corporal e obesidade (WHO, 1995; WHO, 1998), e sedentarismo (BLAIR *et al.*, 1996; DENGEL *et al.*, 1998; SEIDELL, 1999).

A obesidade é considerada uma epidemia mundial (POPKIN e DOAK, 1998). No Brasil, estudos comprovaram que a transição nos padrões nutricionais está refletindo na diminuição progressiva da desnutrição e no aumento da obesidade (MONTEIRO *et al.*, 1995). A obesidade está associada à resistência à ação da insulina (ADA, 1997), e há uma síndrome clínica que resume essa interação: síndrome metabólica ou X (DEFRONZO e FERRANNINI, 1991; HANSEN, 1995).

A alimentação inadequada representa uma das maiores causas dessas desordens. As tendências de transição nutricional convergem para uma dieta mais rica em gorduras (particularmente as de origem animal), açúcares e alimentos refinados, sendo reduzida em carboidratos complexos e fibras, chamada “dieta ocidental” (MONTEIRO *et al.*, 1995b). Estudos realizados com mulheres obesas brasileiras por nosso grupo reforçam que este padrão de alimentação hiperlipídica e hipoglicídica esteja se repetindo em nosso país (FRANCISCHI *et al.*,

1997; FRANCISCHI *et al.*, 1999; FRANCISCHI *et al.*, 1999b; KLOPPER *et al.*, 1999; PEREIRA *et al.*, 1998; FRANCISCHI *et al.*, 2001).

Classicamente já se sabe da relação entre ingestão lipídica e obesidade (AUSTRUP, 1999; LISSNER, 1999; SEIDELL, 1999) e entre consumo de gorduras e doenças cardiovasculares (HIGUERAS *et al.*, 1992; SBC, 1999), em especial às saturadas (LICHTENSTEIN *et al.*, 1998), mas um ponto de interesse é a relação com o diabetes mellitus tipo 2 (MARSHALL *et al.*, 1991). Em ratos alimentados com excesso de gordura, já se observou desenvolvimento de obesidade (SEGUÉS *et al.*, 1994; GIANOTTI *et al.*, 1988; SCLAFANI e SPRINGER, 1976; STORLIEN *et al.*, 1986) e redução na ação insulínica sistêmica, muscular e em adipócitos (GRUNDLEGER e THENEN 1982; MILLER *et al.*, 1985; STORLIEN *et al.*, 1986; STORLIEN *et al.*, 1996; ROCCHINI *et al.*, 1997; HAN *et al.*, 1997; WILKES *et al.*, 1998; PAGLIASSOTTI *et al.*, 1997). Apesar de bem menos estudado, também já foram observadas alterações no pâncreas endócrino em consequência do consumo crônico de dietas hiperlipídicas, com prejuízo na produção e na secreção de insulina pela célula-beta (RUGGERI, 1999). Trabalhos em humanos Ambas ingestão de gordura total e ingestão percentual de ácidos graxos saturados apresentaram correlações positivas com a insulinemia de jejum e pós-prandial, mesmo com os ajustes estatísticos para adiposidade (PARKER *et al.*, 1993). Essas correlações positivas foram atenuadas quando ajustadas estatisticamente para a presença de sedentarismo (MAYER, 1993). O estudo da hiperinsulinemia é de grande interesse para a comunidade científica, uma vez que esta alteração hormonal aparenta ser a causa de inúmeras doenças metabólicas (DEFRONZO e FERRANNINI, 1991).

O comportamento alimentar também tem forte influência nas alterações metabólicas, principalmente quando se considera a frequência de ingestão alimentar. Em estudos transversais, já foi demonstrado que o aumento nessa frequência está associado à diminuição nas concentrações plasmáticas de colesterol (EDELSTEIN *et al.*, 1992) e demais lipídeos plasmáticos (MANN, 1997). Além disso, a frequência alimentar, excluindo-se os efeitos da ingestão calórica, parece estar inversamente relacionada com a adiposidade (METZENER, 1977). O padrão de ingestão “gorging” (copioso, grandes volumes e baixo fracionamento) demonstrou aumentar a lipogênese (BRAY, 1972; FABRY *et al.*, 1964; KNITTLE, 1966) e o peso corporal (BRAY, 1972; DALOSSO *et al.*, 1982; LEVEILLE, 1972), apesar de não influenciar os gastos energéticos (BELLISLE *et al.*, 1997; LEVEILLE, 1972; VERBOEKET-VAN DE VENNE *et al.*, 1993). No entanto, autores defendem que o comportamento alimentar quanto à frequência de ingestão não pode ser considerado um dos maiores determinantes da obesidade (BELLISLE, 1997; SUMMERBELL *et al.*, 1995).

Na década de 30, ELLIS (1934) sugeriu que o aumento na frequência alimentar seria vantajoso na administração de insulina e glicose em casos de diabetes mellitus. Foram encontradas diferenças metabólicas significativas em homens que consumiam 3 (ou menos) refeições por dia ou 5 (ou mais): no primeiro grupo a presença de excesso de peso, hipercolesterolemia e tolerância a glicose diminuída foi muito maior (FABRY *et al.*, 1964). As baixas variações insulinêmicas parecem ser a proteção contra as alterações metabólicas lipídicas e de carboidratos numa dieta fracionada (JENKINS *et al.*, 1989; JENKINS *et al.*, 1992; JENKINS *et al.*, 1995; JENKINS *et al.*, 1997; WOLEVER, 1990), apesar de estudos em animais demonstrarem melhor tolerância à glicose em resposta ao padrão “gorging” (LEVEILLE e CHAKRABARTY, 1968; ROMSOS e LEVEILLE, 1974).

O estudo da frequência alimentar ainda requer trabalhos futuros. Apesar dos indicativos listados sobre os benefícios da ingestão fracionada, estudos em longo prazo não foram conduzidos. O maior intervalo de tempo estudado foi de 4 semanas, sendo que há estudos de apenas 1 dia. Curiosamente, a maior produção científica nesse assunto foi entre as décadas de 60 e 70. Além disso, a frequência alimentar reduzida aliada a dietas com composições inadequadas, como as hiperlipídicas, foram pouco estudadas. Tal associação reflete um hábito freqüente do estilo de vida moderno e parece repercutir significativamente sobre desvios metabólicos de grande relevância para a saúde pública do país. Assim sendo, o presente trabalho objetivou combinar frequência alimentar e dietas hiperlipídicas cronicamente e avaliar respostas metabólicas quanto à tolerância à glicose e acúmulo de gordura corporal, conforme descrito a seguir.

2) Objetivos

Comparar a ingestão alimentar, o ganho de peso, a composição corporal quanto ao conteúdo de gordura e o desenvolvimento de intolerância à glicose em ratas submetidas cronicamente a dietas hiperlipídicas ou hipolipídicas associadas ou não ao comportamento alimentar com frequência reduzida de ingestão alimentar (do tipo “gorging”);

3) Materiais e Métodos

3.1) Animais e Protocolo Experimental: A amostra dos experimentos foi composta de ratas fêmeas Wistar. Ratas fêmeas foram utilizadas para reproduzir os efeitos sobre o metabolismo e o consumo alimentar causados por alterações hormonais e todas as demais características do sexo feminino, o qual apresenta as maiores prevalências de obesidade (WHO, 1998). Os animais

foram mantidos no biotério do Laboratório de Nutrição e Metabolismo Aplicado à Atividade Motora da Escola de Educação Física e Esporte da Universidade de São Paulo, com ciclo claro escuro invertido, com livre acesso à água e ração comercial (Labina, Ralston Purina do Brasil, São Paulo/SP). O experimento teve início quando os animais atingiram a idade adulta, sendo então mantidos nas mesmas condições, porém em gaiolas individuais e divididos aleatoriamente em 4 grupos experimentais que diferenciaram quanto à composição da dieta e a frequência de ingestão alimentar, conforme descrito no quadro 1.

O experimento teve duração de 8 semanas e cada grupo foi composto de cinco animais. Os animais dos grupos CN e HLN tiveram livre acesso às suas dietas e os animais dos grupos CG e HLG tiveram acesso às suas respectivas dietas apenas 1 vez ao dia, durante duas horas seguidas, das 12:00 às 14:00. A ração consumida pelos grupos controle foi comercial, semelhante à consumida na fase de crescimento dos animais. A formulação da dieta hiperlipídica foi realizada no Laboratório de Nutrição da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, onde também se procedeu a análise bromatológica desta, revelando a seguinte composição por 100g:

- Ração comercial: 55,2% de carboidratos e fibras; 22,7% de proteínas; 4,2% de lipídeos.
- Hiperlipídica: 52,6% de carboidratos e fibras; 20,4% de proteínas; 20,5% de lipídeos.

Houve acompanhamento diário do crescimento ponderal dos animais e das quantidades de ração consumidas por cada animal. Decorrida a intervenção dietética, os animais foram sacrificados por concussão cerebral após 4 horas de privação alimentar, com apenas água à disposição.

3.2) Métodos analíticos: Para a estimativa da captação de glicose sistemicamente, foram realizados testes de tolerância oral à glicose (OGTT) em cada animal cinco dias antes

do sacrifício com metodologia descrita anteriormente (Ishida et al, 1996). Após o sacrifício, foram dissecados e pesados os tecidos adiposos marrom e branco (retroperitoneal e corpo adiposo), fígado e amostras de músculo esquelético com fibras do tipo vermelha (sóleo) e mista (gastrocnêmio). Foram calculados os seus respectivos pesos relativos ao peso corporal e os tecidos foram utilizados para determinação do conteúdo lipídico total segundo metodologia descrita (STANSBIE *et al.*, 1976). Toda a carcaça restante também foi separada e homogeneizada para determinação do conteúdo lipídico segundo a mesma metodologia.

3.3) Análise dos dados: Foram calculadas análises de variância (ANOVA) entre os grupos. O nível de significância foi determinado em $p \leq 0,05$. As análises estatísticas e tabulações dos dados foram realizadas com auxílio de *softwares* (STATISTICA for Windows 5.0 - StatSoft Inc 1984-1995; 2325 East 13th Street – Tulsa OK 74104 – USA).

4) Resultados

O gráfico 1 ilustra a variação no peso corporal no início e após as 8 semanas de intervenção dietética em cada grupo experimental. O grupo HLN apresentou o maior peso corporal, sendo que ambos “gorging” atingiram o mesmo peso, inferior aos “nibbling”.

Interessante é comparar esse resultado com as médias de consumo alimentar, tanto para os valores de peso de ração ingerida (g/dia) como para o consumo energético (kcal/dia) apresentados no gráfico 2. Em gramas, os grupos com dieta hiperlipídica ingeriram menos ração. No entanto, ao calcular esses valores de acordo com a densidade energética ingerida (kcal/dia), essas diferenças

desapareceram, permanecendo apenas as diferenças no tocante à frequência de ingestão: os grupos “gorging” ingeriram menos calorias que “nibbling”. Estas diferenças mantiveram-se semelhantes quando corrigidas pelo peso corporal (dados não apresentados).

A tabela 2 apresenta os pesos de cada tecido dissecado relativos ao peso corporal final. Pode-se notar que o fígado dos animais controle foi maior do que os que consumiram dieta hiperlipídica. Os resultados dos músculos esqueléticos (sóleo e gastrocnêmio) demonstraram pesos semelhantes em todos os grupos. Tanto o tecido adiposo retroperitoneal (TARP), o corpo adiposo (CA) e o tecido adiposo marrom (TAM) foram maiores no HLN. Comparando entre os grupos “gorging”, observa-se que a alimentação hiperlipídica garantiu TARP, CA e TAM cerca de duas vezes maiores do que no controle. Nos “nibbling” essa diferença foi cerca de três vezes, com exceção do TAM, que se apresentou semelhante entre os grupos HLG e HLN e entre os grupos CG e CN, sendo maior nos grupos com dieta hiperlipídica.

A quantidade de lipídeos incorporados na carcaça dos animais HLG foi semelhante a dos grupos CN e HLN (gráfico 3). Apenas o grupo CG teve essa incorporação menor quando comparada ao grupo HLN. Considerando a incorporação lipídica nos tecidos adiposos (gráfico 4), nota-se que HLG apresentou o mesmo teor no corpo adiposo que os grupos HLN e CN, significativamente maior que o grupo CG. Quanto à incorporação de gorduras no tecido adiposo retro-peritoneal (gráfico 4), mais uma vez observou-se maior acúmulo de gordura nos animais alimentados com dieta hiperlipídica, sendo que HLG apresentou grande eficiência para incorporação de gordura, semelhante a HLN.

A tabela 3 apresenta os valores de glicemias obtidos durante o teste de tolerância oral à glicose. Pode-se notar nítida melhora na tolerância à glicose nos animais alimentados com ração

“gorging” (minutos 30, 90 e 120). Além disso, percebe-se que os animais com ingestão hiperlipídica apresentaram valores glicêmicos mais altos que os animais controle, revelando piora na tolerância (minutos 90 e 120). Com exceção da glicemia no minuto 0, as curvas entre os grupos HLG e HLN foram semelhantes. Ressalta-se que a maior concentração glicêmica no minuto 0 foi no grupo HLG.

5) Discussão

Este trabalho objetivou avaliar a frequência de ingestão alimentar aliada à dieta hiperlipídica no desenvolvimento de obesidade e de intolerância à glicose em ratas. Ao contrário do esperado, em que a baixa frequência de ingestão levaria ao aumento de peso corporal (BRAY, 1972; DALOSSO *et al.*, 1982; FABRY e TEPPERMAN, 1970; LEVEILLE e HANSON, 1965), ao final das 8 semanas de intervenção a baixa frequência de ingestão (padrão “gorging”) determinou menores pesos corporais do que a ingestão “ad libitum” (padrão “nibbling”). No entanto, quando o consumo alimentar de animais “gorging” foi inferior ao observado em animais “nibbling”, outros autores também notaram menor ganho de peso em função da alimentação intermitente (BELDA, 1987a; BELDA, 1987b; ROMSOS e LEVEILLE, 1974; STEVENSON *et al.*, 1964). Assim, os resultados obtidos em nosso experimento quanto à ingestão alimentar justificam o menor peso corporal em animais “gorging”, que ingeriram consideravelmente menos alimento por dia. De fato, quando camundongos submetidos ao padrão “gorging” alimentaram-se com quantidades isocalóricas a animais “nibbling”, os primeiros apresentaram maior ganho de peso e acúmulo de gordura (KERWICK e PAWAN, 1966).

O menor consumo alimentar nos “gorging” justifica-se pelo curto intervalo de tempo em que houve alimento à disposição (apenas 2 horas por dia), insuficiente para atingir a ingestão nos

animais com oferta “ad libitum”. Quanto à composição da dieta, notou-se menor consumo (em g/dia) nos animais com ração hiperlipídica, em relação aos seus respectivos controles para a frequência de ingestão. Isso ocorreu em virtude da diferença na densidade energética de cada ração (comercial: 350 kcal/100g; hiperlipídica: 476 kcal/100g), sendo que os dois grupos “*sniffing*” e os dois grupos “*gorging*” igualaram entre si os respectivos consumos energéticos (em kcal/dia). Esta capacidade de regular a ingestão calórica é um fino ajuste no balanço energético que ratos Wistar possuem biologicamente.

As diferenças no consumo alimentar garantiram diferentes composições corporais nos animais. O fígado, com peso relativo maior nos animais controle, pode ter um menor teor de glicogênio (e conseqüentemente de água) nos animais com dieta hiperlipídica, já que as reservas deste substrato são diretamente proporcionais ao conteúdo de carboidratos da alimentação (BERGSTROM *et al.*, 1967). Os resultados dos músculos esqueléticos (sóleo e gastrocnêmio) demonstraram que, mesmo em função de considerável restrição no consumo alimentar, os animais do grupo “*gorging*” mantiveram a integridade da massa muscular.

O padrão mais interessante observado nestes animais refere-se aos tecidos adiposos, que foram maiores no grupo HLN. Comparando com seu controle (CN), com a mesma ingestão energética e com apenas diferenças no teor lipídico, notou-se que o fator limitante no estoque de gordura corporal não foi o conteúdo energético, e sim o de lipídeos. Entre os grupos “*gorging*”, também se observou que a alimentação hiperlipídica (HLG) garantiu estoques de tecido adiposo maiores do que no controle (CG), o que revelou que mesmo frente a um consumo energético extremamente reduzido, os animais com a alimentação hiperlipídica infrequente (HLG)

conseguiram estocar gordura corporal na mesma proporção que os animais CN, sendo que o TAM do grupo HLG foi praticamente idêntico ao do grupo HLN (com ingestão muito maior).

Além disso, a quantidade de lipídeos incorporada na carcaça dos animais HLG foi estatisticamente semelhante ao grupo CN e HLN. Considerando a incorporação lipídica no corpo adiposo, também se observou que HLG apresentou o mesmo teor que os grupos CN e HLN, significativamente maior que o grupo CG. Aliás, como visto anteriormente, este último, o grupo CG, apresentou a mesma ingestão energética média que o grupo HLG. A incorporação lipídica no TARP também revelou eficiência no estoque em animais com dieta hiperlipídica, sendo que a combinação desta com a baixa frequência de ingestão (HLG) garantiu reservas de gordura corporais semelhantes ao HLN, que possuíram uma ingestão energética 68% maior que HLG. Conclui-se assim que o grupo HLG teve uma grande eficiência em estocar os lipídeos da dieta na forma de gordura corporal.

A literatura claramente traz informações sobre a eficiência da lipogênese em função de um comportamento “gorging” ou da ingestão hiperlipídica. Referindo-se primeiramente ao componente hiperlipídico, é extremamente importante o balanço de gorduras no organismo, e não apenas o balanço energético, e nossos dados reforçam esse conceito. Não só os totais de energia ingerida e gasta regulam a quantidade dos estoques corporais (FLATT, 1987; FLATT, 1995; MELBY *et al.*, 1998; PRENTICE, 1998; SWINBURN e RAVUSSIN, 1993; TREMBLAY *et al.*, 1994). O balanço de cada macronutriente parece possuir um rigoroso controle para ajustar seu consumo com sua oxidação (e vice-versa) e manter um estado de equilíbrio: o balanço de nitrogênio e de carboidratos é facilitado pela capacidade do organismo em ajustar as taxas de oxidação de aminoácidos e de glicose, respectivamente, em relação aos seus consumos alimentares (FLATT, 1987). No caso das gorduras, esse ajuste é bem menos preciso e o aumento no seu consumo não estimula a sua

oxidação. Então, o organismo aumenta os estoques de gordura corporal (FLATT, 1987).

Dietas hiperlipídicas já comprovadamente levaram ao excesso de gordura corporal em macacos, cachorros, porcos, esquilos, hamsters e ratos (WEST e YORK, 1991), com ou sem associação de hiperfagia. Os efeitos metabólicos responsáveis por este quadro podem estar relacionados aos desvios metabólicos que levariam à intolerância à glicose em consequência do excesso de peso e da alimentação rica em lipídeos, que são caracterizados pelos prejuízos na ação e na secreção da insulina cronicamente.

Discutindo o papel da frequência de ingestão alimentar sobre a lipogênese, nossos dados estão de acordo com o já observado na literatura (BRAY, 1972; DALOSSO et al., 1982; FABRY et al., 1964; KNITTLE, 1966; LEVEILLE, 1972). Os mecanismos que o consumo intermitente (“gorging”) poderia induzir para garantir essa eficiência energética consideram a hipertrofia intestinal e maior absorção de glicose; aumento na atividade da maquinaria enzimática responsável pela lipogênese e pelos processos anabólicos em geral (FABRY e TEPPERMAN, 1970; LEVEILLE, 1972), considerando também o aumento na insulinemia e aumento na sensibilidade à insulina no tecido adiposo (FABRY e TEPPERMAN, 1970).

Nossos dados apontam melhora na tolerância à glicose nos animais alimentados com ração “gorging” e piora nos animais com ingestão hiperlipídica, embora a maior glicemia de jejum tenha sido observada em HLG. Enquanto a alimentação rica em gorduras predispõe tanto indivíduos como animais ao diabetes mellitus (GRUNDLEGER e THENEN 1982; MAYER *et al.*, 1993; MILLER *et al.*, 1985; STORLIEN *et al.*, 1986; STORLIEN *et al.*, 1996; ROCCHINI *et al.*, 1997; HAN *et al.*, 1997; WILKES *et al.*, 1998; PAGLIASSOTTI *et al.*, 1997; PARKER *et al.*, 1993; RUGGERI, 1999), a alimentação infrequente parece causar prejuízos para as respostas insulinêmicas e o metabolismo em

geral apenas em humanos (JENKINS *et al.*, 1989; JENKINS *et al.*, 1992; JENKINS *et al.*, 1995; JENKINS *et al.*, 1997; WOLEVER, 1990), já que em animais essa mesma alimentação parece ser benéfica para o metabolismo de carboidratos (FABRY e TEPPERMAN, 1970; LEVEILLE e CHAKRABARTY, 1968; ROMSOS e LEVEILLE, 1974).

As possíveis explicações dos autores para essa melhora recaem sobre a insulinemia: a maior concentração de insulina nos animais do tipo “gorging” e a maior sensibilidade do tecido adiposo a esta, mesmo em função da maior absorção intestinal de glicose, garantem melhor tolerância à glicose e maior susceptibilidade a lipogênese (ROMSOS e LEVEILLE, 1974). Uma hipótese que justifica a melhora na tolerância à glicose em animais “gorging” é que ainda não houve tempo suficiente para o desenvolvimento da síndrome metabólica nestes animais, uma vez que há grandes chances de que estas altas concentrações insulinêmicas levem cronicamente à falência da célula-beta e à resistência à insulina. Defeitos na secreção de insulina têm sido recentemente ressaltados como de suma importância para o desenvolvimento da intolerância à glicose: atualmente acredita-se que, para o desenvolvimento completo do diabetes mellitus, ambos defeitos na secreção e na ação da insulina devam ocorrer simultaneamente (DEFRONZO, 1997), já que mesmo em presença de resistência à insulina o pâncreas pode super compensar este defeito. A hiperglicemia somente se manifesta a partir do momento em que o pâncreas não é mais capaz de sustentar as altas taxas secretórias de insulina, levando a falência da célula beta (DEFRONZO, 1997).

Assim, considerando as fases de desenvolvimento do diabetes mellitus, parece que estes animais “gorging” ainda estão no estágio inicial, e um estudo mais prolongado pode observar o início da intolerância à glicose, que é observado em humanos com baixa frequência de ingestão alimentar. O trabalho de CURI e HELL (1986), comparando as adaptações

metabólicas entre ratos “gorging” e “nibbling” após 4 semanas e após 20 semanas dos comportamentos alimentares, revelou que após 4 semanas a glicemia entre os grupos ainda não foi estatisticamente diferente, porém após 20 semanas de consumo intermitente, os animais “gorging” apresentam glicemia de jejum 26,7% maior. De fato, um original estudo (SANTOS *et al.*, 1989) sobre as respostas do pâncreas endócrino em função de diferentes comportamentos alimentares revelou que a baixa frequência de ingestão prejudica a função normal da célula-beta.

Estudos futuros específicos das alterações na sensibilidade periférica à insulina e do funcionamento pancreático serão importantes para melhor caracterizar a evolução de distúrbios metabólicos em resposta a estes comportamentos alimentares. Além disso, estudos com ingestão alimentar pareada entre os grupos “nibbling” e “gorging” também serão necessários para melhor elucidar a eficiência energética consequente das alterações na frequência de ingestão e na composição da dieta.

6) Conclusões

Nossos resultados demonstraram que os maiores estoques de gordura corporal foram mais dependentes do alto teor lipídico da dieta e da baixa frequência alimentar do que da ingestão energética. A tolerância à glicose claramente demonstrou pioras em função da alimentação hiperlipídica, mas estes resultados em consequência da frequência alimentar ainda não são conclusivos. Assim, percebe-se que alterações metabólicas decorrentes destes comportamentos alimentares, bastante presentes no hábito moderno, podem estar envolvidas e devem ser avaliadas em estudos futuros.

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar a composição corporal, consumo alimentar e tolerância à glicose de ratas submetidas a diferentes frequências de ingestão alimentar associadas a dietas hiperlipídicas (HL). Ratas Wistar foram acompanhadas por 8 semanas divididas em: **CG** (controle “gorging”, com ingestão de ração comercial 1x/dia durante 2h/dia); **HLG** (HL “gorging”, com consumo de HL 1x/dia por 2h/dia); **CN** (controle “nibbling”, com acesso 24h/d à ração comercial) e **HLN** (HL “nibbling”, com acesso 24h/d à ração HL). Os grupos com dieta HL ingeriram menos alimento que os controles, porém com mesma ingestão energética. Animais “gorging” ingeriram apenas cerca de 62% das calorias consumidas pelos “nibbling”. Após 8 semanas, **HLN** apresentou o maior peso, sendo que os ambos “gorging” atingiram o mesmo peso, inferior aos “nibbling”. Nos animais com dieta HL, foram maiores os depósitos de gordura, sendo que **HLN** apresentou o maior estoque. Quanto à incorporação lipídica na carcaça, **HLG** apresentou o mesmo teor que **CN** e **HLN**, maior que **CG**. Os animais controle apresentaram menores curvas glicêmicas que os HL. Apesar do consumo energético semelhante entre **CG** e **HLG** e entre **CN** e **HLN**, nota-se eficiência em estoque de lipídeos e peso corporal em HL. Mesmo ingerindo menos energia, **HLG** incorporou o mesmo teor de lipídeos que **CN** e **HLN**, o que revelou economia energética do padrão “gorging”. Os maiores estoques de gordura corporal foram mais dependentes do alto teor lipídico e da baixa frequência alimentar do que da ingestão energética. Outras alterações metabólicas decorrentes destes comportamentos alimentares podem estar envolvidas e devem ser avaliadas.

Descritores: Fenômenos bioquímicos, metabolismo e nutrição; Conduta na alimentação; obesidade; ratos Wistar

Fat diets and meal feeding: effects on body fatness in rats

The aim of this study was to evaluate body composition, food intake and glucose tolerance in rats consuming meal feeding associated to fat enriched diets (HL). Female Wistar rats were divided into: **CG** (gorging control, one meal a day with stock diet for 2h/day); **HLG** (gorging fat, one meal a day with fat rich diet for 2h/day); **CN** (nibbling control, ad libitum access to stock diet); **HLN** (nibbling fat, ad libitum access to fat rich diet). HL diet groups ate less than controls, however they had the same energy intake. Gorging animals ate about only 62% of calories consumed by nibbling. After 8 weeks, **HLN** was the heaviest group, and both gorging groups had the same weight, inferior than nibbling groups. HL animals had heavier fat depots than controls, but **HLN** had the heaviest one. Lipid incorporation into fat in body carcass was the same among **HLG**, **CN** and **HLN**, bigger than **CG**. Control animals had lower glucose curve during oral glucose tolerance test than HL ones. Besides the same energy intake between **CG** and **HLG** and between **CN** and **HLN**, animals with HL diet were more efficient in save excess energy as body fat. **HLG** had the same body fatness as **CN** and **HLN**, even though **HLG** had less energy intake, demonstrating energy economy in gorging pattern. The heavier body fatness were more dependent on enriched fat diet and meal feeding than energy intake. Other metabolic disorders consequent on these feeding behaviors may be involved and should be evaluated.

Mesh: Biochemical Phenomena, Metabolism and Nutrition; Feeding behaviour; Obesity; Wistar, rats

Dietas hiperlipídicas y frecuencias de ingestión alimentaria: efetos sobre las reservas de grasa corporal em ratones

El objetivo de este estudio fue evaluar la composición corporal, el consumo alimentario y la tolerancia a la glicosia de ratones sometidos a diferentes frecuencias de ingestión alimentaria asociadas a dietas hiperlipídicas (HL). Ratones Wistar fueron acompañados durante 8 semanas divididos en : **CG** (control “gorging”, con ingestión de ración comercial 1x/día

durante 2 h/día); HLG (HL “gorging”, con consumo de HL 1x/día por 2h/día); CN (control “nibbling”, con acceso 24h/día a la ración comercial) y HLN (HL “nibbling”, con acceso 24h/día a la ración HL). Los grupos con dieta HL ingirieron menos alimento que los controles, sin embargo con la misma ingestión energética. Los Animales “gorging” ingirieron apenas cerca del 62% de las calorías consumidas por los “nibbling”. Después de 8 semanas, el HLN presentó el mayor peso, siendo que ambos “gorging” llegaron al mismo peso, inferior a los “nibbling”. En los animales con dieta HL, fueron mayores los depósitos de grasas, siendo que el HLN presentó la mayor reserva. En cuanto a la incorporación lipídica en el esqueleto del animal, HLG presentó el mismo tenor que CN y HLN, mayor que CG. Los animales controles presentaron curvas glicémicas menores que los HL. Apesar del consumo energético semejante entre CG y HLG y entre CN y HLN, se nota eficiencia en la reserva de glipídeos y peso corporal en HL. Mismo ingiriendo menos energía, HLG incorporó el mismo tenor de lipídeos que CN y HLN, lo que reveló una economía energética en el patrón “gorging”. Las mayores reservas de grasa corporal dependieron más del alto tenor lipídico y de la baja frecuencia alimentaria que de la ingestión energética. Otras alteraciones metabólicas pueden estar envueltas como consecuencia de estos comportamientos alimentarios y deben ser evaluados.

Descriptores: Fenomenos bioquimicos, Metabolismo y Nutricion; Conducta alimentaria; Obesidad; Ratas Wistar

Tabelas e gráficos:

Tabela 1: Composição da dieta e sua frequência de ingestão segundo grupo experimental

Grupos	Composição da dieta	Frequência de ingestão alimentar
CONTROLE 24 HORAS	Hipolipídica (ração comercial)	<i>Ad libitum</i> (“nibbling”) - (CN)
HIPERLIPÍDICA 24 HORAS	Hiperlipídica	<i>Ad libitum</i> (“nibbling”) - (HLN)
CONTROLE 2 HORAS	Hipolipídica (ração comercial)	1 vez/dia (“gorging”) - (CG)
HIPERLIPÍDICA 2 HORAS	Hiperlipídica	1 vez/dia (“gorging”) - (HLG)

Obs: estamos mantendo os termos “nibbling” e “gorging” por não encontrarmos sinônimos em português que caracterizassem esses comportamentos. A literatura define “nibbling” como o ato de comer “mordiscando”, “beliscando”, representando um hábito alimentar fracionado, com alta frequência de ingestão e com volume pequeno de alimentos ingeridos e “gorging” como o de comer insaciável, “comilão”, pouco fracionado e com refeições copiosas ingeridas com gula.

Tabela 2: Peso dos tecidos dissecados (fígado, mûculos sôleos, mûculos gastrocnêmios, tecido adiposo retroperitoneal (TARP), corpo adiposo (CA) e tecido adiposo marrom (TAM)) relativos ao peso corporal anterior ao sacrifício (mg de tecido/g peso corporal) em cada grupo experimental[&]:

Grupos ^{&}		Fígado (mg/g)	Sóleo (mg/g)	Gastro (mg/g)	TARP (mg/g)	CA (mg/g)	TAM (mg/g)
CG (n=5)	Média	31.63*	0.79	12.52	6.46 ^{*#}	7.36 ^{*#}	1.09 ^{**#}
	Desvio padrão	2.51	0.11	0.52	1.75	5.16	0.39
HLG (n=5)	Média	28.86	0.77	12.67	15.99 [*]	15.33*	2.01 ^{##}
	Desvio padrão	4.29	0.07	1.17	5.23	4.11	0.59
CN (n=5)	Média	30.90*	0.77	12.19	10.26 [*]	11.72*	1.27 ^{**}
	Desvio padrão	2.00	0.13	0.46	3.34	2.34	0.30
HLN (n=5)	Média	25.17	0.78	11.67	30.24	30.21	1.99
	Desvio padrão	1.77	0.07	0.66	9.85	7.26	0.23

[&]: CG: controle “gorging” (n=5); HLG: hiperlipídica “gorging” (n=5); CN: controle “nibbling” (n=5); HLN: hiperlipídica “nibbling” (n=5).

^{*}: p < 0.01 em relação ao grupo HLN

^{**}: p < 0.05 em relação ao grupo HLN

[#]: p < 0.05 em relação ao grupo HLG

^{##}: p < 0.05 em relação ao grupo CN

Tabela 3: Variação nos valores glicêmicos durante os intervalos de tempo (0, 30, 60, 90 e 120 minutos) no teste de tolerância oral à glicose em cada grupo experimental[&] ao final do experimento.

<i>Grupos</i>		minutos				
		0	30	60	90	120
CG	média	65,4	89,4	87,8	75,0	64,4
	desvio-padrão	6,1	6,1	18,8	6,0	6,2
HLG	média	75,2	117,0	90,2	82,4	78,4
	desvio-padrão	12,5	18,0	12,6	7,9	5,2
CN	média	57,2	130,8	80,8	63,6	60,8
	desvio-padrão	7,7	10,8	18,0	19,2	8,7
HLN	média	61,0	114,3	94,5	86,3	82,0
	desvio-padrão	2,2	16,9	7,3	8,1	6,5

[&]: CG: controle “gorging” (n=5); HLG: hiperlipídica “gorging” (n=5); CN: controle “nibbling” (n=5); HLN: hiperlipídica “nibbling” (n=5).

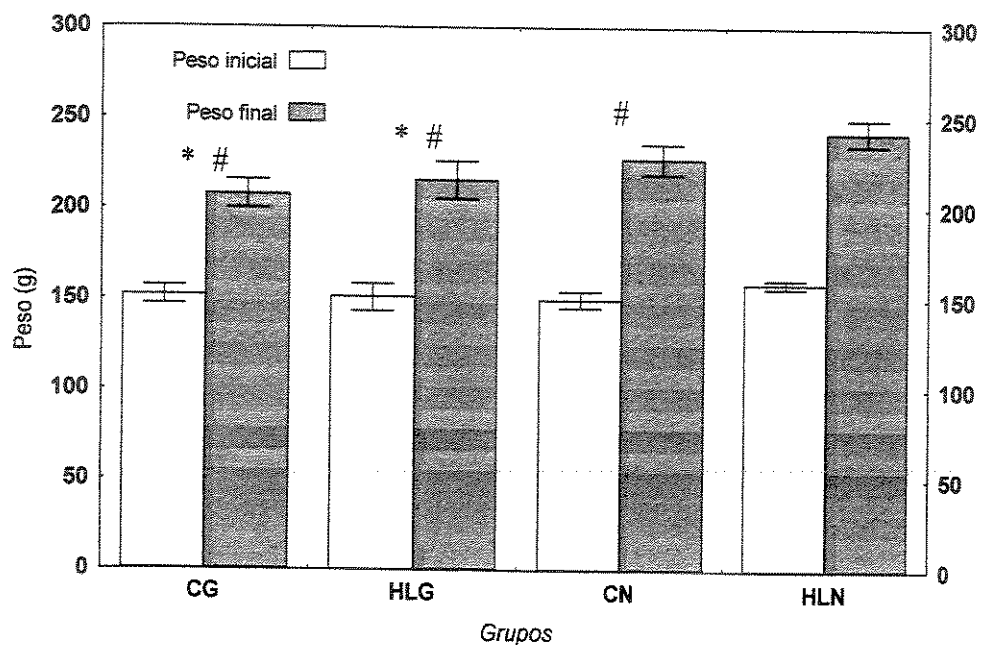
^{*}: p<0,05 em relação ao HLG para o mesmo intervalo de tempo;

^{**}: p<0,05 em relação ao CN para o mesmo intervalo de tempo;

^{***}: p<0,05 em relação ao HLN para o mesmo intervalo de tempo;

Gráficos

Gráfico 1: Variação na média do peso corporal (g) no início e ao final do experimento em cada grupo experimental[&]:

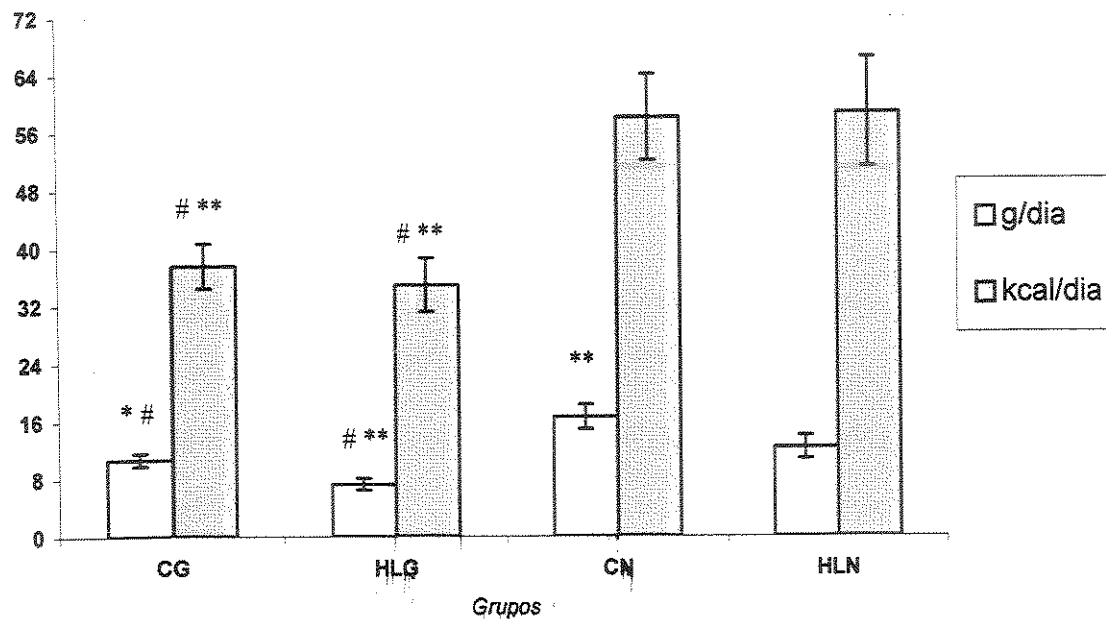


[&]: CG: controle “gorging” (n=5); HLG: hiperlipídica “gorging” (n=5); CN: controle “nibbling” (n=5); HLN: hiperlipídica “nibbling” (n=5); dados apresentados em média $\pm$ erro-padrão;

*: $p < 0,01$ em relação ao peso final de CN

#: $p < 0,01$ em relação ao peso final de HLN

Gráfico 2: Variação na média do consumo alimentar expresso em g/dia e em kcal/dia em cada grupo experimental[&]:



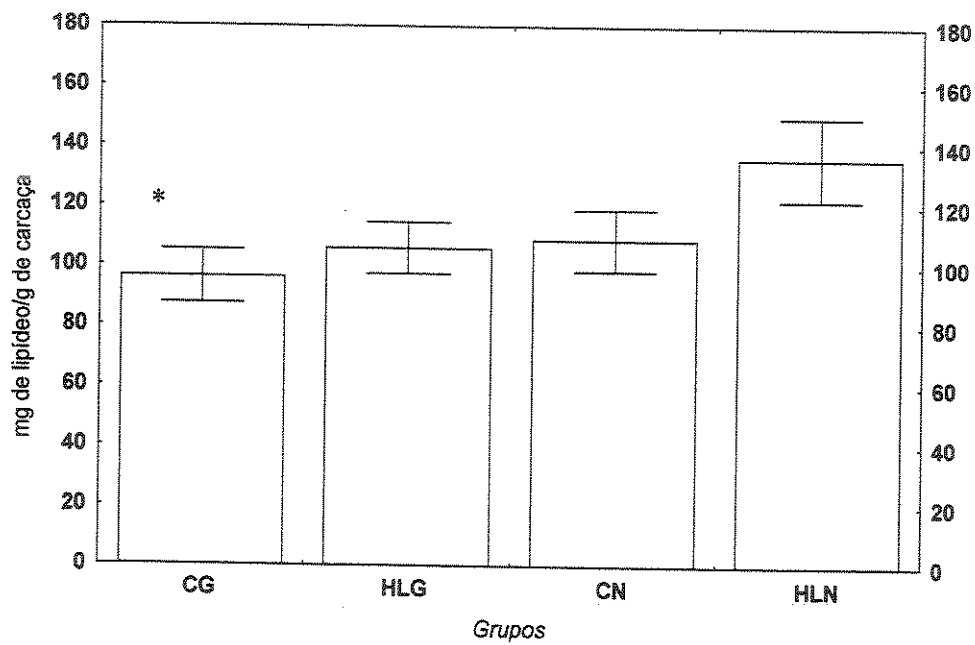
[&]: CG: controle "gorging" (n=5); HLG: hiperlipídica "gorging" (n=5); CN: controle "nibbling" (n=5); HLN: hiperlipídica "nibbling" (n=5); dados apresentados em média ± desvio-padrão.

*: p<0,01 em relação ao grupo HLG para a mesma variável

#: p<0,01 em relação ao grupo CN para a mesma variável

**: p<0,01 em relação ao grupo HLN para a mesma variável

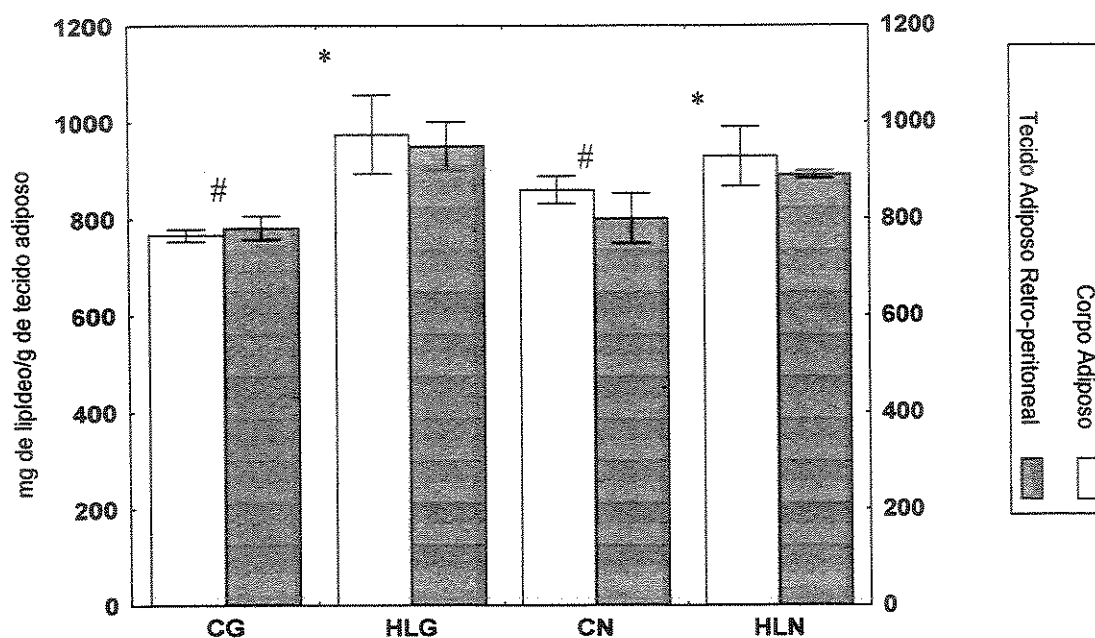
Gráfico 3: Variação no conteúdo de lipídeos extraídos das carcaças dos animais em cada grupo experimental[&]:



[&]: CG: controle “gorging” (n=5); HLG: hiperlipídica “gorging” (n=5); CN: controle “nibbling” (n=5); HLN: hiperlipídica “nibbling” (n=5); dados apresentados em média $\pm$ erro-padrão.

*: $p < 0,05$ em relação ao grupo HLN

Gráfico 4: Variação no conteúdo de lipídeos extraídos dos tecidos adiposos (corpo adiposo e tecido adiposo retro-peritoneal) dos animais em cada grupo experimental[&]:



[&]: CG: controle “gorging” (n=5); HLG: hiperlipídica “gorging” (n=5); CN: controle “nibbling” (n=5); HLN: hiperlipídica “nibbling” (n=5); dados apresentados em média $\pm$ erro-padrão.

*: $p < 0,05$ em relação ao grupo CG para a mesma variável

#: $p < 0,05$ em relação ao grupo HLN para a mesma variável

Referências Bibliográficas

- ADA-AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Report of the Expert Committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. **Diabetes care**. New York, v. 20, p. 1183-97, 1997.
- AUSTRUP, A. Dietary fat and obesity – Does quantity matter? **Scand. J. Nutrition**. Lund, v.43, n. 34, p. 28S, 1999.
- BELDA, M.C.R.; ZUCAS, S.M.; CURY, P.R. Efeito da frequência da ingestão de alimentos e do exercício físico sobre o crescimento de ratos. **Rev. Cienc. Farm.** Araraquara, v.8/9, p. 25-49, 1987a.
- BELDA, M.C.R.; ZUCAS, S.M.; CURY, P.R. Efeitos da frequência da ingestão de alimentos e do exercício físico sobre a composição corporal: níveis de lipídeos e proteínas nas carcaças de ratos **Rev. Cienc. Farm.** Araraquara, v.8/9, p. 183-97, 1987b.
- BELLISLE, F.; McDEVITT, R.; PRENTICE, A.M. Meal frequency and energy balance. **Br. J. Nutr.** Cambridge, v.77, n.1, p. S57-S70, 1997.
- BERGSTROM, J.; HERMANSEN, L.; HULTMAN, E.; SALTIN, B. Diet muscle glycogen and physical performance. **Acta Physiol. Scand.** Stockholm, v.71, p.140, 1967.
- BLAIR, S.N.; HORTON, E.; LEON, A.S.; LEE, I-MIN; DRINKWATER, B.L.; DISHMAN, R.K. et al. Physical activity, nutrition and chronic disease. **Med. Sci. Sports Exerc.** Baltimore, v. 28, p. 335-49, 1996.
- BRAY, G.A. Lipogenesis in human adipose tissue: some effects of nibbling and gorging. **J. Clin. Invest.** New Haven, v.51, p. 537-48, 1972.
- CURL, R.; HELL, S. Metabolic changes of twenty weeks food-restriction schedule in rats. **Physiol. Behav.** New York, v36, p. 239-43, 1986.
- DALOSSO, H.M.; NURGATROYD, P.R.; JAMES, W.P.T. Feeding frequency and energy balance in adult males. **Human Nutrition: Clinical Nutrition**. London, v.36c, p. 25-39, 1982.
- DEFRONZO, R. Pathogenesis of type 2 diabetes: metabolic and molecular implications for identifying diabetes genes. **Diabetes Rev.** New York, v.5, p.177-267, 1997.
- DEFRONZO, R. A.; FERRANNINI, E. Insulin resistance: a multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia, and atherosclerotic cardiovascular disease. **Diabetes care**, New York, v.14, p. 173-94, 1991.
- DENGEL, D. R.; HAGBERG, J. M.; PRATLEY, R. E.; ROGUS, E. M.; GOLDBERG, A. P. Improvements in blood pressure, glucose metabolism, and lipoprotein lipids after aerobic exercise plus weight loss in obese, hypertensive middle-aged men. **Metabolism**. London, v.47, p. 1075-1082, 1998.
- EDELSTEIN, S.L.; BARRETT-CONNOR, E.L.; WINGARD, D.L.; COHN, B.A. Increased meal frequency associated with decreased cholesterol concentration; Rancho Bernardo, CA, 1984-1987. **Am. J. Clin. Nutr.** Bethesda, v.55, p.664-9, 1992.

- ELLIS, A. Increased carbohydrate tolerance in diabetes following hourly administration of glucose and insulin over long periods. **Quart. J. Med.** Oxford, v.27, p. 137-53, 1934.
- FABRY, P.; HEJL, Z.; FODOR, J.; BRAUN, T. The frequency of meals – its relation to overweight, hypercholesterolemia, and decrease glucose tolerance. **Lancet**, London, v.19, p.614-5, 1964.
- FABRY, P. Feding pattern and nutritional adaptations. London: Butterworths, 1969.
- FABRY, P.; TEPPERMAN, J. Meal frequency – a possible factor in human pathology. **Am. J. Clin. Nutr.** Bethesda, v. 23, p. 1059-68, 1970.
- FLATT, J. P. Dietary fat, carbohydrate balance, and weight maintenance: effects of exercise. . **Am. J. Clin. Nutr.** Bethesda, v. 45, p. 296-306, 1987.
- FLATT, J.P. Use and storage of carbohydrate and fat. **Am. J. Clin. Nutr.** Bethesda, v. 61, p. 952S-9S, 1995.
- FRANCISCHI, R. P., OUENDO, L., CAMPOS, P.L., FUTIGAMI, S., NETO, S.R.C., LANCH JR, A.H. Physical activity and nutritional control features a treatment of obesity in Brazilian women. In: 10 TH INTERNATIONAL CONFERENCE OF BIOCHEMISTRY OF EXERCISE, Sydney, 1997. **Poster Abstracts**, Sydney, 1997, p. 40.
- FRANCISCHI, R. P.; KLOPPER, M.; PEREIRA, L.O.; CAMPOS, P.L.; SAWADA, L. A.; SANTOS, R.; VIEIRA, P.; LANCH JR, A. H. Efeito da intensidade da atividade física e da dieta hipocalórica sobre consumo alimentar, a composição corporal e a colesterolemia em mulheres obesas. **Rev. Bras. Nutr. Clin.** Porto Alegre, v.14, p.1-8, 1999.
- FRANCISCHI, R.P.; SANTOS, R.C.; VIEIRA, P.; FREITAS, C.S.; KLOPPER, M. PEREIRA, L.O.; SAWADA, L.A.; CAMPOS, P.L.; LANCH JR., A. H. Effects of exercise on dietary composition, metabolism and body composition of Brazilian obese women. **Scand. J. Nutrition.** Lund, v.43, n. 34, p. 40S, 1999.
- FRANCISCHI, RP.; PEREIRA, L.O.; LANCH JR., A.H. Exercício, comportamento alimentar e obesidade: revisão dos efeitos sobre a composição corporal e parâmetros metabólicos. **Rev. Paul. Educ. Fís.** São Paulo, v.15, n.2, 2001.
- GIANOTTI, M.; ROCA, P.; PALOU, A. Body weight and tissue composition in rats made obese by a cafeteria diet. Effect of 24 hour starvation. **Horm. Metab. Res.** Stuttgart, v.20, p. 208-12, 1988.
- GRUNDLEGER, M.L.; THENEN, S.W. Decreased insulin binding, glucose transport, and glucose metabolism in soleus muscle of rats fed a high fat diet. **Diabetes**. New York, v.31, p. 232-7, 1982.
- HANSEN, B.C. Obesity, diabetes, and insulin resistance: implications from molecular biology, epidemiology, and experimental studies in human and animals. **Diabetes care**. New York, v.18, n. 2, p. A2-A9, 1995.
- HAN, D.; HANSEN, P.A.; HOST, H.H.; HOLLOSZY, J.O. Insulin resistance of muscle glucose transport in rats fed a high-fat diet: a reevaluation. **Diabetes**. New York, v.46, p. 1761-7, 1997.
- HIGUERAS, J.M.; ARIAS, J.M.; MATAIX, F.J.; MONTELLANO, M.A.; LLOPIS, J. Plasma lipid composition in na elderly population: correlation with dietary fat. **Int. J. Vitam. Nutr. Res.** Berne, v.62, p. 261-5, 1992.

- ISHIDA, K.; MIZUNO, A.; MURAKAMI, T.; SHIMA, K. Obesity is necessary but not sufficient for the development of diabetes mellitus. **Metabolism**. London, v.45, p. 1288-95, 1996.
- JENKINS, D.J.A.; WOLEVER, T.M.S.; VUKSAN, V.; BRIGHENTI, F.; CUNNANE, S.C.; VENKETESHWER, A. et al. Nibbling versus gorging: metabolic advantages of increased meal frequency. **N. Engl. J. Med.** Waltham Massachussets, v.321, p. 929-34, 1989.
- JENKINS, D.J.A.; OCANA, A.; JENKINS, A.L.; WOLEVER, T.M.S.; VUKSAN, V.; KATZMAN, L. et al. Metabolic advantages of spreading the nutrient load: effects of increased meal frequency in non-insulin-dependent diabetes. **Am. J. Clin. Nutr.** Bethesda, v. 55, p. 461-7, 1992.
- JENKINS, D.J.A.; KHAN, A.; JENKINS, A.L.; ILLINGWORTH, R.; PAPPU, A.S.; WOLEVER, T.M.S. et al. Effect of nibbling versus gorging on cardiovascular risk factors: serum uric acid and blood lipids. **Metabolism**. London, v. 44, p. 549-55, 1995.
- JENKINS, D.J.A. carbohydrate tolerance and food frequency. **Br. J. Nutr.** Cambridge, v.77, n.1, p. S71-S81, 1997.
- KERWICK, A.; PAWAN, G.L.S. The effect of feeding patterns on fat deposition in mice. **Metabolism**. London, v.15, p. 173-80, 1966.
- KEYS, A.; ARAVANIS, C.; VAN BUCHEM, F.S.P.; BLACKBURN, H. BUZINA, R. DJORDJEVIC, B.S. et al. The diet and all-causes death rate in the seven country study. **Lancet**, London, v.11, p. 58-61, 1981.
- KNITTLE, L. Meal-eating versus nibbling: effect on human adipose tissue metabolism. **Am. J. Clin. Nutr.** Bethesda, v. 18, p. 310, 1966.
- KLOPFER, M.; FRANCISCHI, R.; CAMARGO, R.; VIEIRA, P.; OQUENDO, L.; FREITAS, C.S.; SAWADA, L.; CAMPOS, P.; LANCHIA-Jr, A.H. Moderate energy restriction with or without aerobic exercise: a comparison of three methods. In: DIET AND THE METABOLIC SYNDROME – INTERNATIONAL SYMPOSIUM; Ystad (Sweden), 1999. Ystad: Swedish Nutrition Foundation; 1999, p. 65.
- LEVEILLE, G. A.; HANSON, R.W. Influence of periodicity of eating in the chicken. **J. Physiol.** London, v.209, p.153-7, 1965.
- LEVEILLE, G.A.; CHAKRABARTY. Absorption and utilization of glucose by meal-fed and nibbling rats. **J. Nutrition**. Bethesda, v. 96, p. 69-75, 1968.
- LEVEILLE, G. A. Lipogenic adaptations related to pattern of food intake. **Nutr. Rev.** Washington DC, v. 30, p.151-5, 1972.
- LICHTENSTEIN, A.H.; KENNEDY, E.; BARRIER, P.; DANFORD, D.; ERNST, N.D.; GRUNDY, S.M. et al. Dietary fat consumption and health. **Nutr. Rev.** Washington DC, v. 56, n. 5 Pt II, p. S3-28, 1998.
- LISSNER, L. Dietary fat and prevention of obesity. **Scand. J. Nutrition**. Lund, v.43, n. 34, p. 18S, 1999.

- MANN, J. Meal frequency and plasma lipids and lipoproteins, **Br. J. Nutr.** Cambridge, v.77, n. 1, p. S83-S90, 1997.
- MARSHALL, J.A.; HAMMAN, R.F.; BAXTER, J. High-fat, low-carbohydrate diet and the etiology of non-insulin-dependent diabetes mellitus: The San Luis Valley diabetes study. **Am. J. Epidemiol.** Baltimore, v.134, p. 590-603, 1991.
- MAYER, E.J.; WEISS, S.T.; TROISI, R.; CASSANO, P.A.; VOKONAS, P.S.; LANDSBERG, L. Usual dietary fat intake and insulin concentration in healthy women twins. **Diabetes Care**, New York, v.16, p. 1459-69, 1993.
- MELBY, C. L.; COMMERFORD, S. R. ; HILL, J. O. Exercise, macronutrient balance, and weight control. In: Lamb, D. R. & Murray, R. **Perspectives in Exercise Science and Sports Medicine volume 11: Exercise, Nutrition, and Weight Control**. Carmel, Cooper Publishing Group, 1998. p. 1-60.
- METZNER, H.L.; LAMPHIEAR, D.E.; WHEELER, N.C.; LARKIN, F.A. The relationship between frequency of eating and adiposity in adult men and women in the Tecumseh Community Health Study. **Am. J. Clin. Nutr.** Bethesda, v.30, p. 712-15, 1977.
- MILLER, G.D.; HRUPKA, B.J.; GIETZEN, D.W.; ROGERS, Q.R.; STERN, J.S. Influence of dietary carbohydrate on skeletal muscle glucose uptake. **Am. J. Clin. Nutr.** Bethesda, v. 41: 526-32, 1985.
- MONTEIRO, C. A.; MONDINI, L.; SOUZA, A. L. M.; POPKIN, B. M. The nutrition transition in Brazil. **Eur. J. Clin. Nutr.** Hampshire, v.49, p.105-13, 1995.
- MONTEIRO, C. A.; MONDINI, L.; SOUZA, A. L. M.; POPKIN, B. M. Da desnutrição para a obesidade: a transição nutricional no Brasil. In: MONTEIRO, C. A.: **Velhos e novos males da saúde no Brasil – a evolução do país e de suas doenças**. São Paulo, Hcitech-NUPENS/USP, 1995b. p. 247-55.
- OLIVEIRA, J.E.; MILECH, A.; FRANCO, L.J. The prevalence of diabetes in Rio de Janeiro, Brazil. **Diabetes Care**. New York, v.19, p. 663, 1996.
- PAGLIASSOTTI, M.J.; HORTON, T.J.; GAYLES, E.C.; KOPPENHAFFER, T.A.; ROSENZWEIG, T.D.; HILL, J.O. Reduced insulin suppression of glucose appearance is related to susceptibility to dietary obesity in rats. **Am. J. Physiol (Regulatory Integrative Comp. Physiol.)**. Bethesda, v. 272, n. 41, p. R1264-70, 1997.
- PARKER, D.R.; WEISS, S.T.; TROISI, R.; CASSANO, P.A.; VOKONAS, P.S.; LANDSBERG, L. Relationship of dietary saturated fatty acids and body habitus to serum insulin concentration: the Normative Aging Study. **Am. J. Clin. Nutr.** Bethesda, v.58, p.129-36, 1993.
- PEREIRA, L. O.; FRANCISCHI, R. P.; KLOPFER, M.; PERROTI, A. C.; CAMPOS, P. L.; SAWADA, L. A.; COSTA, S. R.; LANCH JR., A. H. Different intensities of physical activities with or without hypocaloric diet: effects on body composition, food consumption and plasmatic profile in obese women. **Med. Sci. Sports Exerc.** Baltimore, v.30, p. S238, 1998.
- POPKIN, B. M.; DOAK, C. M. The obesity epidemic is a worldwide phenomenon. **Nutr. Rev.** Washington DC, v.56, p. 106-14, 1998.

- PRENTICE, A.M. Manipulation of dietary fat and energy density and subsequent effects on substrate flux and food intake. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, v.67 (suppl), p. 535S-41S, 1998.
- ROCCHINI, A.P.; MARKER, P.; CERVENKA, T. Time course of insulin resistance associated with feeding dogs a high-fat diet. **Am. J. Physiol. (Endocrinol. Metab.)**. Bethesda, v.272, n. 35, p. E147-54, 1997.
- ROMSOS, D.R.; LEVEILLE, G.A. Effect of meal frequency and diet composition on glucose tolerance in the rat. **J. Nutr.** Bethesda, v. 104, p. 1503-12, 1974.
- RUGGERI, G.B. **Influência da composição da dieta sobre o pâncreas endócrino de ratos normais**. São Paulo, 1999. (Tese de Doutorado). Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
- SANTOS, A.; VILLELA, F.G.; MACHADO, U.F.; CURI, R.; CARPINELLI, A.R. Insulin secretion in the isolated islets of single-, regular-fasted and fed rats. **Physiol. Behav.** New York, v. 45, p. 923-7, 1989.
- SBC - Sociedade Brasileira de Cardiologia. Programa nacional de prevenção e epidemiologia [on line]. 1999. [citado em 14/04/99]. Disponível no endereço: <www.cardiol.br/epidemio.htm>
- SCLAFANI, A.; SPRINGER, D. Dietary obesity in adult rats: similarities to hypothalamic and human obesity syndromes. **Physiol. Behav.** New York, v.17, p. 461-71, 1976.
- SEGUÉS, T.; SALVADÓ, J.; AROLA, L.; ALEMANY, M. Long-term effects of cafeteria diet feeding on young wistar rats. **Biochem. Mol. Biol. Int.** New York, v. 22, p. 321-8, 1994.
- SEIDELL, J.C. Obesity insulin resistance and diabetes – a worldwide epidemic? In: DIET AND THE METABOLIC SYNDROME – INTERNATIONAL SYMPOSIUM; Ystad (Sweden), 1999. Ystad: Swedish Nutrition Foundation; 1999, p. 20.
- STANSBIE, D.; BROWNSEY, R.W.; CRETIAZ, M.; DENTON, R.M. Acute effects in vivo of anti-insulin serum on rates of fatty acid synthesis and activities of acetyl-coenzyme A carboxylase and pyruvate dehydrogenase in liver and epididymal adipose tissue of fed rats. **Biochem. J.**, London, v.160, p. 413-6, 1976.
- STEVENSON, J.A.F.; FELEKI, V.; SZLAVKO, A.; BEATON, J.R. Food restriction and lipogenesis in the rat. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.** Stanford, v. 116, p. 178-82, 1964.
- STORLIEN, L.H.; JAMES, D.E.; BURLEIGH, K.M.; CHISHOLM, D.J.; KRAEGEN, E.W. Fat feeding causes widespread in vivo insulin resistance, decreased energy expenditure, and obesity in rats. **Am. J. Physiol. (Endocrinol. Metab.)**. Bethesda, v. 251, n. 14, p. E576-83, 1986.
- STORLIEN, L.H.; BAUR, L.A.; KRIKETUS, A.D.; PAN, D.A.; COONEY, G.J.; JENKINS, A.B. et al. Dietary fats and insulin action. **Diabetologia**. Heidelberg, v. 39, p. 621-31, 1996.
- SUMMERBELL, C.D.; MOODY, R.C.; SHANKS, J.; STOCK, M.J.; GEISLER, C. Relationship between feeding pattern and body mass index in 220 free-living people in four age group. **Eur. J. Clin. Nutr.** Hampshire, v.50, p. 513-9, 1995.
- SWINBURN, B.; RAVUSSIN, E. Energy balance or fat balance? **Am. J. Clin. Nutr.** Bethesda, v. 57 (suppl), p. 766S-71S, 1993.

- TREMBLAY, A.; ALMÉRAS, N.; BOER, J.; KRANENBARG, E. K.; DESPRÉS, J.P.. Diet composition and postexercise energy balance. **Am. J. Clin. Nutr.** Bethesda, v. 59, p. 975-9, 1994.
- VERBOEKET-VAN DE VENNE, W.P.H.G.; WESTERP, K.R.; KESTER, A.D.M. Effect of the pattern of food intake on human energy metabolism. **Br. J. Nutr.** Cambridge, v. 70, p. 103-115, 1993.
- WEST, D. B.; YORK, B. Dietary fat, genetic predisposition, and obesity: lessons from animal models. **Am. J. Clin. Nutr.** Bethesda, v. 67, p.505S-12S, 1998.
- WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Physical Status: the use and interpretation of anthropometry**. [Technical Report Series 854], Geneva, 1995.
- WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Obesity – preventing and managing the global epidemic**. Report of a WHO Consultation on Obesity. Geneva, 1998.
- WILKES, J.J.; BONEN, A.; BELL, R.C. A modified high-fat diet induces insulin resistance in rat skeletal muscle but not adipocytes. **Am. J. Physiol. (Endocrinol. Metab.)**. Bethesda, v. 275, n. 38, p. E679-86, 1998.
- WOLEVER, T.M.S. Metabolic effects of continuous feeding. **Metabolism**. London, v.39, p. 947-51, 1990.