

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

DANILO DE SOUZA FELIPE

**EFEITO DO TREINAMENTO AERÓBICO NA PROGRAMAÇÃO FETAL, NA
INDUÇÃO DA OBESIDADE E SUAS CONSEQUÊNCIAS NO SISTEMA
RESPIRATÓRIO DA PROLE**

ALFENAS/MG

2022

DANILO DE SOUZA FELIPE

**EFEITO DO TREINAMENTO AERÓBICO NA PROGRAMAÇÃO FETAL, NA
INDUÇÃO DA OBESIDADE E SUAS CONSEQUÊNCIAS NO SISTEMA
RESPIRATÓRIO DA PROLE.**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Fisiológicas pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Regulação da função respiratória.
Orientadora: Profa. Dra. Roseli Soncini

ALFENAS/ MG

2022

Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas
Biblioteca Central

Felipe, Danilo de Souza .

Efeito do treinamento aeróbico na programação fetal, indução da obesidade e suas consequências no sistema respiratório da prole. / Danilo de Souza Felipe. - Alfenas, MG, 2022.

68 f. : il. -

Orientador(a): Roseli Soncini.

Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, 2022.

Bibliografia.

1. Supernutrição pós-natal. 2. Mecânica respiratória. 3. Exercício físico. 4. Diafragma. I. Soncini, Roseli, orient. II. Título.

Daniilo de Souza Felipe

Efeito do treinamento aeróbico na programação fetal, na indução da obesidade e suas consequências no sistema respiratório da prole

A Banca Examinadora abaixo-assinada aprova a Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Fisiológicas pela Universidade Federal de Alfenas.

Área de concentração: Fisiologia

Aprovada em: 01 de junho de 2022

Profa. Dra. Roseli Soncini(UNIFAL-MG)

Instituição: Universidade Federal de Alfenas

UNIFAL-MG

Prof. Dr. Glauber dos Santos Ferreira da Silva

Instituição: Universidade Federal de Minas Gerais

UFMG

Prof. Dr. Fernando Vitor Vieira

Instituição: Universidade Universidade Federal de Alfenas

UNIFAL-MG



Documento assinado eletronicamente por Roseli Soncini, Professor do Magistério Superior, em 03/06/2022, às 08:56, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por Fernando Vitor Vieira, Usuário Externo, em 06/06/2022, às 14:21, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por Glauber dos Santos Ferreira da Silva, Usuário Externo, em 06/06/2022, às 20:34, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.unifal-mg.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador 0742329 e o código CRC 2640E463.

Aos meus pais e meu irmão que sempre me apoiaram e incentivaram a buscar constantemente o conhecimento! E à minha noiva por todo apoio e paciência durante essa etapa!

AGRADECIMENTOS

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior) pelo apoio à esse projeto (Código de Financiamento 001) e pelo suporte e subsídio ao Programa de Pós-graduação Multicêntrico em Ciências Fisiológicas (PPGMCF).

À UNIFAL-MG, ao PPGMCF e respectivos professores por todo apoio dado desde o princípio! Imensamente obrigado!

Sou eternamente grato à Deus! Por tudo e todos que fez, faz, acrescenta(ou) ou retira(ou) da minha Vida, principalmente nos momentos de maior dificuldade ou indecisão! Obrigado Deus!!!

Agradeço imensamente à professora Dra. Roseli Soncini que desde o primeiro contato me abriu as portas e a possibilidade de concretizar mais esse sonho e degrau em minha Vida! Além disso, incluo todos os ensinamentos, críticas construtivas, “puxões de orelha”, toda paciência e dedicação para comigo e nosso projeto durante esses quase 3 anos! Sinceramente, muito obrigado!

Ao meu pai, minha mãe e meu irmão só tenho palavras e sentimento de gratidão! Os incentivos de vocês que vêm desde quando eu estava na pré-escola (ensino infantil) construíram toda essa base que me sustenta até hoje, permitindo a minha busca e alcance da evolução! Muito obrigado!!! Amo vocês!

À minha noiva, Viviane C. L. Nogueira “Felipe”, muito obrigado por toda ajuda e paciência ao longo dessa etapa! Me ajudou nos cuidados com os animais no laboratório, me ajudou na escrita, me ajudou na campanha para juntar rolos de papelão para colocar nas caixas dos animais, enfim, forneceu uma ajuda essencial para que pudesse alcançar mais esse objetivo! Muito obrigado!!! Te amo!

Deixo aqui também meu enorme agradecimento ao Yuri, Ricardo e Breno, colegas de laboratório, e que a cada etapa me auxiliavam, ensinavam, sem pestanejar estavam sempre prontos para qualquer situação! Muito obrigado!!!

Ao IFSULDEMINAS – campus Muzambinho, em especial aos professores Dr. Renato A. Souza e Msc. Dênis Bueno da Silva, ao professor Fabiano, à profa. Karina, profa. Caroline, ao William, Eduardo, Luciano e sua esposa, e demais funcionários meus sinceros agradecimentos por tudo e pela amizade de sempre! Deus abençoe!!!

Outras pessoas me ajudaram demais, nas diferentes etapas, e que foram fundamentais no decorrer desse projeto, enfim, todos aqueles que de alguma forma contribuíram para que conseguíssemos completar com efetividade cada etapa deste projeto! Muito obrigado!!! Deus abençoe vocês imensamente!

“Não pare de lutar por aquilo que você não fica um dia sem pensar!”

Flávio Augusto da Silva.

RESUMO

A obesidade é uma morbidade crônica caracterizada pela acumulação exagerada de gordura no corpo, o que impulsiona vários agravos ao organismo. A programação fetal aborda basicamente as consequências da interação entre o ambiente externo (fenótipo) e os fatores biológicos da gestante e do feto (genótipo). O treinamento físico é definido como procedimento melhoramento físico, nas suas faces morfológicas e funcionais. Mas, os exercícios físicos praticados pelas mães antes e durante a gravidez podem ter efeitos benéficos no sistema respiratório de seus filhos? Para isso foram utilizados 62 camundongos Swiss (CEUA UNIFAL-MG 03/2020): 12 fêmeas e 6 machos. Os 44 filhotes fêmeas gerados foram distribuídos em ninhada normal e ninhada reduzida (indução de obesidade). Os filhotes foram divididos de acordo com o treinamento da mãe e indução da obesidade, em CTA (treinamento), NCTA (não treinamento), OTA (treinamento e obesidade) e NOTA (não treinamento e obesidade). O peso da prole (aos 26^o dias de vida) foi de $18,5 \pm 0,4$ e $22,2 \pm 0,4$ g; respectivamente para os grupos CTA e OTA ($p < 0,001$); $18,8 \pm 0,3$ e $22,9 \pm 0,5$ g respectivamente para os grupos NCTA e NOTA ($p < 0,004$). Os resultados indicam que houve obesidade na prole independente do protocolo a que a matriz foi submetida. Posteriormente, os animais foram anestesiados, traqueostomizados e conectados a um ventilador mecânico (FlexiVent, SCIREQ, Montreal, Canadá, versão 5.00) para avaliação da resistência do sistema respiratório (R_{tot} , cmH₂O.s / mL) e das vias aéreas (R_{aw} , cmH₂O.s/mL), sob administração de solução salina (Sal) ou metacolina (MCh). MCh administrado resultou: maior valor de R_{tot} para o grupo NOTA ($3,37 \pm 0,37$) e menor valor para OTA ($1,75 \pm 0,22$), onde $p < 0,01$. Este mesmo padrão é visto no parâmetro R_{aw} . Para o perfil bioquímico, os resultados do parâmetro calcemia foram, em mg/dL, $8,21 \pm 0,23$ para NCTA, $7,76 \pm 0,12$ para CTA, $8,97 \pm 0,28$ para NOTA, e $9,05 \pm 0,31$ para OTA; no parâmetro colesterolemia total (mg/dL) foram: $79,89 \pm 11,77$ para NCTA; $77,38 \pm 11,63$ para CTA; $92,40 \pm 11,72$ para NOTA; e $113,2 \pm 9,20$ para OTA. No parâmetro glicemia (mg/dL) foram: $120,4 \pm 6,04$ para NCTA; $154,9 \pm 3,98$ para CTA; $153,2 \pm 13,73$ para NOTA; e $165,1 \pm 3,11$ para OTA. E por fim, no parâmetro trigliceridemia (mg/dL) foram: $127,3 \pm 21,8$ para NCTA; $187,4 \pm 31,4$ para CTA; $163,8 \pm 17,6$ para NOTA; e $198,3 \pm 24,2$ para OTA. Na histologia, a obesidade influenciou na expressão das fibras elásticas e fibras colágenas tanto no tecido pulmonar quanto no diafragma. Em contrapartida, o treinamento físico aeróbico parece ter auxiliado na redução de fibras colágenas em ambos tecidos. Esses resultados indicam que a obesidade causa influência negativa no sistema respiratório. Numa outra via, o treinamento físico nas mães pode atenuar a resistência causada pela obesidade na prole; o treinamento aeróbico pode ter influenciado positivamente também na histologia pulmonar. Portanto, deduzimos que mecanismos epigenéticos permitiram que o treinamento físico aeróbico de moderada à baixa intensidade promoveu alterações no sistema respiratório da prole.

Palavras-chave: Supernutrição pós-natal; mecânica respiratória; exercício físico; diafragma.

ABSTRACT

Obesity is increased by chronic morbidity, which is an exaggerated importance to the body. Fetal programming basically deals with the consequences of the interaction between the external environment (phenotype) and the biological factors of the pregnant woman and the fetus (gen). Physical training is defined as physical improvement, in its morphological and functional aspects. But do physical exercises for mothers and pregnancy during pregnancy benefit before their children's complementary system? For this, 62 Swiss mice were used (CEUA UNIFAL-MG 03/2020): 12 females and 6 males. The 44 pups generated were distributed into normal and nested litters (obesity induction). Obesity pups were not defined according to mother training and induction, in CTA (training), NCTA (training), OTA (training and obesity) and NOTA (not and obesity). Life weight (at 26 days of life) was 18.5 ± 0.4 and 22.2 ± 0.4 g; respectively for the CTA and OTA groups ($p < 0.001$); 18.8 ± 0.3 and 22.9 ± 0.5 g respectively for the NCTA and NOTA groups ($p < 0.004$). The results indicate that there was obesity and profile independent of the protocol that the matrix was disclosed. Subsequently, the animals were anesthetized tracheostomized and anesthetized, a mechanical ventilator, SCIREQ, Montreal, Canada, version for evaluating the system's resistance ($\text{cmH}_2\text{O.s/mL}$), under saline (Sal) or methacholine (MCh) management. MCh administered resulted in higher R_{tot} value for the NOTA group (3.37 ± 0.37) and lower value for OTA (1.75 ± 0.22), $p < 0.01$. This same pattern is seen in the Raw parameter. For the biochemical profile, the results of the calcium parameter were, in mg/dL , $8,21 \pm 0,23$ for NCTA, $7,76 \pm 0,12$ for CTA, $8,97 \pm 0,28$ for NOTA, and $9,05 \pm 0,31$ for OTA; without parameter total cholesterolemia (mg/dL) were: $79,89 \pm 11,77$ for NCTA; $77,38 \pm 11,63$ for CTA; $92,40 \pm 11,72$ for NOTA; and $113,2 \pm 9,20$ for OTA. Without blood glucose parameters (mg/dL) they were: $120,4 \pm 6,04$ for NCTA; $154,9 \pm 3,98$ for CTA; $153,2 \pm 13,73$ for NOTA; and $165,1 \pm 3,11$ for OTA. And finally, triglyceridemia without parameter (mg/dL) were: $127,3 \pm 21,8$ for NCTA; $187,4 \pm 31,4$ for CTA; $163,8 \pm 17,6$ for NOTA; and $198,3 \pm 24,2$ for OTA. In the histology, obesity influenced the expression of elastic fibers and collagen fibers in both lung tissue and diaphragm. In contrast, aerobic physical training seems to help reduce collagen fibers in both tissues. These results indicate that obesity causes negative obesity in the system. In another way, training in mothers can attenuate obesity resistance in offspring; aerobic training may have also positively influenced pulmonary histology. Therefore, epigenetic mechanisms will allow moderate to low aerobic exercise training to increase the change in the offspring's reinforcement system.

Keywords: Postnatal overnutrition; respiratory mechanics; exercise; diaphragm.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES DO ESTUDO

Figura 01 – Ilustração do encurtamento do músculo liso.....	19
Figura 02 – Quantidade total de animais experimentais do estudo.....	24
Figura 03 – Esteira automatizada utilizada no protocolo de treinamento físico aeróbico do estudo.....	25
Figura 04 – Esquema do protocolo do treinamento aeróbico em esteira.....	26
Figura 05 – Esquema do protocolo de indução da obesidade e formação dos grupos experimentais usados no presente estudo.....	27
Figura 06 – Esquema contendo o número de animais usados em cada protocolo experimental do estudo.....	28
Figura 07 – Delineamento experimental do estudo.....	28
Figura 08 – Ventilador para pequenos animais.....	29
Figura 09 – Diagrama do ventilador para pequenos animais.....	29
Figura 10 – Imagem da captura de tela do software do Flexivent.....	32
Figura 11 – Cortes histológicos com espessura de 5µm correlacionados com suas respectivas análises estatísticas.....	45

LISTA DE GRÁFICOS DO ESTUDO

Gráfico 1 – Valores da massa corpórea das mães.....	36
Gráfico 2 – Quantidade de filhotes das matrizes.....	37
Gráfico 3 – Valores da massa corpórea da prole.....	38
Gráfico 4 – Valores de resistência total da prole.....	40
Gráfico 5 – Valores de resistência das vias aéreas da prole.....	41
Gráfico 6 – Valores de resistência tecidual da prole.....	41
Gráfico 7 – Valores do cálcio plasmático da prole.....	42
Gráfico 8 – Valores da glicose plasmática da prole.....	43

LISTA DE TABELAS DO ESTUDO

- Tabela 1 – Apresenta os resultados dos grupos objeto do estudo na condição basal na avaliação de mecânica respiratória.....39
- Tabela 2 – Apresenta os resultados dos grupos objeto do estudo após administração de salina na avaliação de mecânica respiratória39
- Tabela 3 – Valores dos parâmetros complacência, elastância e elastância do tecido pulmonar (C, E e Htis) nos grupos do estudo.....42
- Tabela 4 – Valores da trigliceridemia e colesterolemia nos grupos de estudo.....44

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	Análise de Variância
BIE	Broncoconstrição induzida pelo exercício
C	Complacência
CeCAES	Centro de Ciências Aplicado à Educação e Saúde
CEUA	Comitê de Ética para o Uso de Animais
Cm	centímetros
cmH ₂ O.s/mL	centímetros de água a cada segundo por mililitro
CO ₂	Gás carbônico
CTA	Controle Treinamento Aeróbico
DDV	Dias de Vida
DPOC	Doença pulmonar obstrutiva crônica
E	Elastância
EPM	Erro padrão da média
EUA	Estados Unidos da América
g	gramas
Gtis	Resistência tecidual
Htis	Elastância do tecido pulmonar
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
i.e.	Isto é
IFSULDEMINAS	Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais
i.p.	intraperitoneal
Kg	Quilograma
Km/h	Quilômetros por hora
M	Mol
m/min	Metros por minuto
mL	mililitros
MCh	Metacolina
<i>n</i>	número/quantidade
NCTA	Controle Não Treinamento Aeróbio
NN	Ninhada normal

nn	nanômetros
NIH	National Institute of Health
NOTA	Obeso Não Treinamento Aeróbico
NR	Ninhada reduzida
NTA	Não Treinamento Aeróbico
OMS	Organização Mundial da Saúde
One-Way	Uma via
OTA	Obeso Treinamento Aeróbico
O ₂	Oxigênio
PEEP	Pressão expiratória final positiva (<i>Positive end-expiratory pressure</i>)
pH	Índice de acidez ou basicidade
PNS	Pesquisa Nacional de Saúde
Raw	Resistência das vias aéreas
Rtot	Resistência total
TA	Treinamento Aeróbico
TEM	Teste de Esforço Máximo
TLC	Capacidade pulmonar total (<i>Total Lung Capacity</i>)
UNIFAL-MG	Universidade Federal de Alfenas
USP	Universidade de São Paulo
VA	Vias aéreas
VIGITEL	Vigilância de Fatores de Riscos e Proteção de Doenças por Inquérito Telefônico
VS	Vasos Sanguíneos

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	REFERENCIAL TEÓRICO	17
2.1	Sistema Respiratório.....	17
2.2	Obesidade.....	19
2.3	Programação Fetal.....	21
2.4	Treinamento Físico.....	22
3	OBJETIVOS	23
3.1	Objetivo geral.....	23
3.2	Objetivo específico.....	23
4	JUSTIFICATIVA	24
5	MATERIAIS E MÉTODOS	25
5.1	Animais.....	25
5.2	Treinamento físico aeróbio.....	25
5.3	Indução, comprovação da obesidade e design dos grupos experimentais.....	27
5.4	Mecânica respiratória.....	30
5.5	Análises bioquímica do sangue: calcemia, glicemia, colesterolemia total e de trigliceridemia.....	34
5.6	Análise dos conteúdos de fibras elásticas e colágenas.....	36
5.7	Análise dos dados.....	36
6	RESULTADOS	38
6.1	Massa corpórea e quantidade de filhotes das matrizes (mães).....	38
6.2	Comprovação Da Obesidade.....	39
6.3	Mecânica respiratória.....	40
6.4	Perfil bioquímico.....	44
6.5	Análise histológica.....	46

7	DISCUSSÃO.....	49
8	CONCLUSÕES.....	57
	REFERÊNCIAS.....	58
	ANEXO A.....	68

1 INTRODUÇÃO

O sistema respiratório apresenta a função principal de suprir O₂ e remover CO₂ do organismo. Os pulmões e os músculos respiratórios realizam movimentos coordenados e que movimentam o ar atmosférico para dentro e o ar contido no interior dos pulmões (ar alveolar) para fora, gerando constantemente um fluxo de ar (WEST, 2013). No entanto, o fluxo de ar pode mudar frente a algumas condições e uma delas está relacionada a alterações no calibre das vias aéreas. A redução deste calibre (broncoconstrição) pode ser encontrada em resposta à broncoconstritores e em condições como atividade física e obesidade.

A obesidade é definida como uma morbidade crônica e que tem como característica principal a acumulação exagerada de gordura no corpo, o que impulsiona vários agravos ao organismo (JORDÃO *et al.*, 2019). A prevalência da obesidade, a nível mundial, ganhou proporções epidêmicas e relaciona-se crescentemente com o aumento da taxa de mortalidade (OGDEN *et al.*, 2007). Relatórios da Organização Mundial de Saúde (OMS) indicam que entre 1980 e 2013, a proporção de adultos obesos no mundo elevou-se de 28,8% para 36,9% entre os homens; e de 29,8% para 38% entre as mulheres. Esses aumentos têm variado de 5% na China, Japão e alguns países africanos a 75% em algumas das ilhas da Polinésia. Na Europa, a prevalência triplicou nos últimos 20 anos (MCCLEAN *et al.*, 2008). As taxas de obesidade na infância vêm aumentando de forma significativa, pois padrões de alimentação e exercícios físicos desenvolvidos na infância não são fáceis de mudar, o que torna a obesidade infantil um caso alarmante e um importante fator de risco para a obesidade adulta, estando ligada a maior chance de morte prematura e de incapacidade na vida adulta (MCCLEAN *et al.*, 2008). Segundo a Vigilância de Fatores de Riscos e Proteção de Doenças por Inquérito Telefônico (VIGITEL), no Brasil as maiores frequências de excesso de peso foram observadas, entre homens, em Porto Alegre (66,7%), e, entre mulheres, no Rio de Janeiro (58,4%). As menores frequências de excesso de peso, entre homens, ocorreram em Teresina (49,3%), e, entre mulheres, em Palmas (44,1%). As maiores frequências de obesidade foram observadas, entre homens, em Manaus (27,1%), e, entre as mulheres, no Rio de Janeiro (24,6%). E as menores frequências de obesidade ocorreram, entre homens, em Aracaju (14,4%), e, entre mulheres, em Palmas (14,9%) (BRASIL, 2018).

A programação fetal aborda basicamente as consequências da interação entre o ambiente externo (fenótipo) e os fatores biológicos da gestante e do feto (genótipo). Seguindo este raciocínio, a prática de atividade física durante a gravidez tem sido recentemente bastante investigada para identificar os seus efeitos na programação fetal. Um estudo realizado na Índia identificou uma resposta inversamente proporcional sobre o nível de atividade física durante a gestação e o acréscimo de peso da 28ª semana em diante (RAO *et al.*, 2003 *apud* LEANDRO *et al.*, 2009). No mesmo sentido, a (OMS) recomenda que as mulheres pratiquem atividades físicas durante a gravidez para que continuem com uma boa saúde e evitem o aumento do peso corporal nesse período (OMS, 2016).

Contudo, uma condição indesejada ou desconfortável para o indivíduo, chamada de broncoconstrição induzida por exercício (BIE) pode ocorrer no indivíduo durante a prática de atividade física, dependendo da intensidade, duração, tipo e ambiente de execução. Essa condição é caracterizada pelo estreitamento das vias aéreas devido aos mecanismos principais e secundários que acontecem em resposta ao exercício (BONINI; SILVERS, 2018).

Tendo em vista a interação que pode existir entre obesidade, programação fetal e treinamento físico, surgiu-se a indagação: exercícios físicos praticados pelas mães antes e durante a gravidez podem ter efeitos benéficos no sistema respiratório de seus filhos?

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Sistema Respiratório

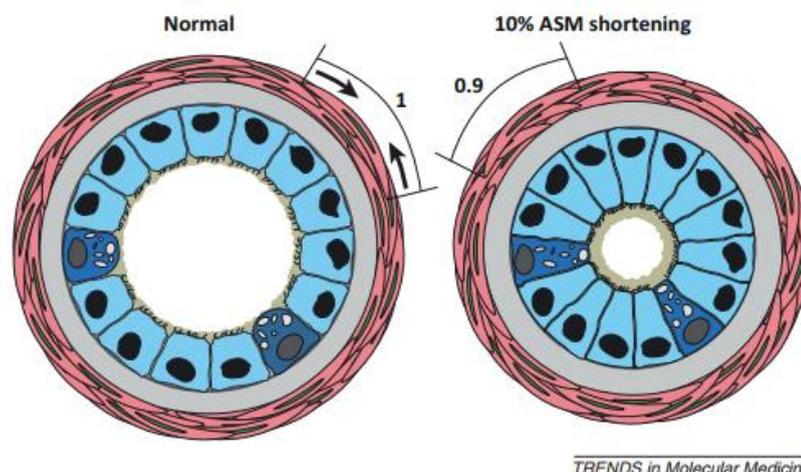
A troca de gases, ou seja, a remoção de CO_2 e o fornecimento de O_2 , é fundamental para a vida dos seres vivos. O oxigênio é um elemento essencial para a vida da grande maioria dos seres vivos. O processo de ventilação é a maneira desse elemento sair do meio ambiente (ar atmosférico) e chegar ao interior do organismo, bem como realizar a remoção do CO_2 da célula até o meio ambiente. Há variações deste processo bem como das estruturas envolvidas nele, sendo o pulmão e os músculos em vertebrados terrestres, os principais componentes do sistema respiratório contidos na caixa torácica. Nos seres humanos há a presença de demais componentes, outras estruturas que auxiliam o processo deste a condução até a difusão deste gás para dentro das células. Todo processo acontece ininterruptamente ao longo do tempo. Os demais componentes do sistema respiratório são, resumidamente: o nariz, a faringe, a laringe, a traqueia (parte que faz a condução do ar), brônquios (principais e ramificações), bronquíolos, alvéolos (parte que executa as trocas gasosas), pleuras, músculos esqueléticos (que atuam nos movimentos respiratórios), coluna vertebral, costelas e esterno (que formam o arcabouço da caixa torácica). Cada um desses elementos possui funções específicas e que somadas permitem que aconteça o perfeito processo da ventilação (WEST, 2013).

Como já dito, a ventilação tem o principal papel de suprir as demandas de O_2 nas células e remover o gás carbônico do organismo. Contudo, podemos listar outras funções importantes deste sistema como por exemplo participar da termorregulação, auxiliar no balanço ácido-base, auxiliar o sistema cardiovascular produzindo substâncias vasoativas, atuar na defesa do organismo junto ao sistema imunológico, e sendo responsável pela fonação. A ventilação é composta, resumidamente, pelas fases inspiratória e expiratória, movimentos que permitem a entrada e saída do ar do sistema. Os movimentos respiratórios durante a inspiração em repouso são conduzidos pela ação de músculos respiratórios, com destaque para o diafragma e intercostal externo, promovendo a expansão do tórax. Já durante a expiração, acontece o relaxamento da musculatura que atuou na inspiração. É importante ressaltar que todo movimento respiratório tem como consequência o aumento ou a diminuição da pressão interna do sistema respiratório, pressão esta que está diretamente relacionada com a entrada ou saída de ar dos pulmões. Os movimentos respiratórios (em repouso) se repetem continuamente, exceto se houver demanda ventilatória e outros músculos irão atuar

promovendo a retração da parede torácica e consequente eliminação do ar, situações essas que podemos citar como exemplo a prática de exercício físico extenuante ou a doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) (WEST, 2013). O diafragma é um importante componente do sistema respiratório, se enquadrando como o principal músculo envolvido na ventilação, dividindo a cavidade torácica-abdominal anatomicamente (KOCJAN *et al.*, 2017). Este músculo se contrai de forma intermitente para eliminar o volume de ar e modificar o volume, forma e pressão do tórax. Situações fisiológicas extremas ou situações patológicas podem promover prejuízos ao diafragma, seja pela indução da fadiga ou fraqueza muscular, ou deterioração da sua eficácia mecânica, o que pode resultar em insuficiência ventilatória. Um detalhe importante é que a resposta contrátil do diafragma frente às cargas resistivas e elásticas é maior que frente à força da inércia, quando comparado a outros músculos. (OROZCO-LEVI; GEA, 1997).

Interessantemente, essas condições adversas já citadas como a prática de exercício físico extenuante, uma DPOC, e outras situações como a exposição à agente alérgeno/polvente, ou até mesmo a administração de fármacos podem gerar consequências deletérias no fluxo de ar nas vias aéreas, e influenciando na responsividade das vias aéreas. O conceito de responsividade das vias aéreas é entendido como a capacidade de estreitamento que as vias aéreas promovem quando estimuladas por algum elemento (MARCON *et al.*, 2018). Outra situação que pode surgir é o evento denominado broncoconstrição. A broncoconstrição se define como um estreitamento das vias aéreas, de modo que o lúmen fica mecanicamente comprimido (O'SULLIVAN; PHUNG; PARK, 2020). Aggarwal, Mulgirigama e Berend (2018) relatam que a broncoconstrição é o estreitamento agudo das vias aéreas, o qual pode ser momentâneo e reversível (ver Figura 1). E que esta condição pode ocorrer em pacientes que têm asma crônica ou em indivíduos saudáveis. Estes autores ainda comentam que os sintomas mais comuns na broncoconstrição podem ser dispneia, a tosse, o aperto no peito e a produção excessiva de muco. Koya *et al.* (2020) relataram que quando ocorre uma contração ou estreitamento das vias aéreas nos momentos durante ou após à prática de exercício físico é considerado então como uma broncoconstrição induzida pelo exercício (BIE). Esta pode acometer tanto pacientes com asma quanto indivíduos saudáveis.

Figura 1 - Ilustração de um encurtamento do músculo liso induz ao estreitamento da via aérea.



Fonte: adaptado de Bossé (2012).

A seguir, será descrito sobre outro importante fator que pode impactar demasiadamente no surgimento de uma broncoconstrição que é a obesidade. Uma quantidade demasiada de gordura na região do tórax pode causar uma compressão mecânica no sistema respiratório. Assim, o excesso de tecido adiposo pode influenciar a mecânica pulmonar e da parede torácica (PETERS *et al.*, 2019). Rutting *et al.* (2020) relatam que existem indícios de que a obesidade pode impactar uma resposta broncoconstritora, explicando assim o aumento dos sintomas respiratórios como tosse e chiado.

2.2 Obesidade

Conceitualmente, a obesidade é entendida como quantidade exagerada de massa de gordura no corpo (OMS, 2020). A obesidade resulta do desequilíbrio energético, ou seja, condição em que o indivíduo tem uma ingesta alimentar bem superior ao gasto energético, somando-se a isso a possibilidade de ele sofrer influências negativas de elementos genéticos ou elementos ambientais. Ao lado do diabetes, a obesidade é considerada um dos principais problemas de saúde pública no planeta e por isso necessita de grande investigação e entendimento (ABESO, 2022).

No mundo, de acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), atualmente em torno de 1 bilhão de pessoas estão obesas, deste total, 4% são crianças (PAHO, 2022). No Brasil 19,8% da população encontra-se obesa e as crianças representam aproximadamente 12,9% destes (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRO para o ESTUDO da

OBESIDADE e SÍNDROME METABÓLICA, 2022). Ademais, foi identificado na Pesquisa Nacional de Saúde (PNS), em 2019, feita pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) que em indivíduos entre 15 a 17 anos de idade, as mulheres apresentam maior percentual de excesso de peso e obesidade quando comparadas aos homens, sendo 22,9% contra 16,0%, e 8% contra 5,4%, respectivamente (IBGE, 2019). Assim, de acordo com esses dados fica evidente que as mulheres são mais acometidas pela obesidade, e isso reforça ainda mais a importância de se investigar tal problemática que incide sobre esse grupo da população. A literatura aborda que o tratamento convencional para a obesidade tem sofrido grande resistência, sendo a prevenção a estratégia de maior relevância. Assim, identificar e compreender os fatores de risco é essencial para que a estratégia de prevenir possa minimizar a exposição da população alvo a tais fatores de riscos comuns (HEMMINGSSON, 2018). Bronw *et al.* (2015) ressalta que é de grande importância que haja uma intervenção durante a infância, pois a obesidade se manterá ao longo da vida adulta relacionando-se com o aumento da taxa de morbidade e mortalidade. Esses autores ainda descrevem que as comorbidades associadas à obesidade podem acometer os indivíduos ainda durante a infância, necessitando assim de maiores cuidados na avaliação e tratamento dessas condições, o que levará a um maior gasto com cuidados de saúde.

A obesidade pode causar importantes alterações nas propriedades mecânicas pulmonares e na parede torácica, por meio do acúmulo de tecido adiposo na cavidade abdominal e mediastino, e essas condições causam redução da complacência do sistema respiratório. A obesidade também pode gerar efeitos mecânicos que causam o estreitamento das vias aéreas com consequente aumento da resistência do sistema respiratório, também chamada de resistência total. Este estreitamento também pode promover redução do gás inspirado e uma homogeneidade da ventilação (DIXON; PETERS, 2018).

A literatura apresenta que a obesidade acometida nas mães pode ser oriunda dos seus hábitos alimentares. E isso, incidirá fortemente no desenvolvimento do feto durante o período gestacional, com grandes chances de se manifestar ao longo da vida da prole. Outro estudo observou que indivíduos descendentes de mães expostas a dieta hiper lipídica apresentaram aspecto metabólico impróprio, inclusive durante dieta balanceada após o nascimento (COSTA, 2021; MARCO *et al.*, 2014). A obesidade materna pode refletir em efeitos deletérios na prole adulta, porém, vale também investigar o papel protetivo de hábitos saudáveis praticados pelas mães antes e durante

a gestação, como alimentação saudável e exercícios físicos, pode ser manifestados na prole.

2.3 Programação Fetal

O termo programação fetal refere-se ao mecanismo da plasticidade do desenvolvimento, respondendo a estímulos nutricionais ou ambientais, e se manifestado durante o início da vida terá posteriores consequências adversas na vida adulta (doenças comportamentais, metabólicas ou de risco cardiovascular). Apesar dos mecanismos ainda não estarem esclarecidos, esses efeitos adversos à longo prazo representam uma incongruência entre condições ambientais iniciais (nos estágios fetal e neonatal) e as condições que o elemento irá encontrar na vida adulta (GICQUEL; EL-COSTA; BOUC, 2008).

David Barker (1990) afirma que o risco de morte pode ser aumentado pelas condições adversas vivenciadas durante a infância. David relata que altas taxas de morte durante o parto e saúde debilitada das mães influenciam no aumento a mortalidade neonatal. Ele também cita que o peso ao nascer somado a uma boa alimentação durante anos iniciais são inversamente proporcionais às taxas de mortes por doença isquêmica cardíaca e infarto. Adicionalmente, a composição da alimentação na infância exerce importante efeito sobre o desenvolvimento motor em bebês prematuros. O pesquisador reforça dizendo que o ambiente materno pode impactar no surgimento tanto de doenças cardiovasculares como outras doenças também, exemplificadas pela esquizofrenia e doença pulmonar obstrutiva crônica (BARKER, 1990).

Os animais classificados como vivíparos possuem placenta e útero, os quais protegem o feto das condições ambientais externas, otimizando as condições para o desenvolvimento fetal. Após nascer, a temperatura e a quantidade de oxigênio no ambiente externo são completamente diferentes do ambiente intrauterino, forçando de forma repentina o processo de adaptação. Nesse sentido, condições maternas imperfeitas podem influenciar fortemente neste processo (ARIMA; FUKUOKA, 2020).

Wu *et al.*, (2021) relatam que a epigenética está relacionada às alterações bioquímicas que influenciam a expressão gênica sem correlações com mudança no código genético. Alterações epigenéticas, oriundas de elementos ambientais e do estilo de vida, têm demonstrado capacidade de influenciar a saúde. Nesse sentido, o exercício

físico tem se apresentado uma importante responsabilidade de executar um papel positivo na saúde humana e prevenção de doenças.

Adicionalmente, segundo esses autores, o exercício físico promove alterações na epigenética, podendo gerar efeitos benéficos. Vários estudos descrevem o impacto do exercício físico em processos envolvidos na epigenética em diferentes tecidos como por exemplo tecido adiposo, no sangue e músculo estriado esquelético, neste, atingindo principalmente genes metabólicos. Os autores ainda afirmam que pesquisas emergentes em animais e humanos têm demonstrado que exercício físico feito pelos pais ou pelas mães exercem benefícios entre gerações (WU *et al.*, 2021).

2.4 Treinamento Físico

A terminologia “atividade física” é muito abrangente, carregando em seu entendimento uma gama de modalidades e tipos de práticas corporais. Contudo Perkins *et al.*, (2007 *apud* LEANDRO *et al.*, 2009) afirmam que é preciso determinar os termos utilizados, os quais são: atividade física, exercício físico ou treinamento físico. Nesse sentido, os autores Barbanti, Tricoli e Ugrinowitsch (2004 *apud* ROSCHEL; TRICOLI; UGRINOWITSCH, 2011) definem o treinamento físico como procedimento organizado e sistematizado de melhoramento físico, nas suas faces morfológicas e funcionais, atingindo de forma direta na habilidade de executar alguma atividade que envolva exigências motoras, seja na área do esporte ou outra área.

Leonardo Alexandre Peyré-Tartaruga e seus colaboradores também reforçam que o treinamento físico constitui na realização de forma estruturada de uma sequência de exercícios físicos, com objetivos de curto, médio a longo prazo, estruturado com coerência, podendo ser avaliado e/ou reavaliado (PEYRÉ-TARTARUGA *et al.*, 2021)

O exercício físico exerce grande influência no sistema respiratório, diretamente proporcional à sua intensidade. Durante a prática de exercício físico há um aumento do aporte sanguíneo para suprir a musculatura em atividade, haja vista a elevação da demanda de oxigênio e da produção de gás carbônico. Neste caso, os pulmões executam duas funções distintas, mas essenciais: 1) o fornecimento de oxigênio na corrente sanguínea, permitindo suprir a demanda de O₂ nas células; 2) e o tamponamento de CO₂ metabólico, removendo-o da corrente sanguínea para fora do organismo por meio da expiração (AIRES, 2017).

Deste modo, fica claro a importância desse órgão para o organismo inclusive em situações de estresse como no exercício físico.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

O objetivo do presente estudo foi averiguar as consequências do treinamento aeróbico na programação fetal e da indução da obesidade por redução de ninhada sob o sistema respiratório, principalmente na broncoconstrição.

3.2 Objetivos específicos

Os objetivos específicos definidos para este estudo foram:

- a) Analisar os efeitos do treinamento físico aeróbico sobre as matrizes em relação à massa corpórea e número de filhotes no parto;
- b) Averiguar a indução da obesidade por redução de ninhada na prole de matrizes treinadas e não treinadas;
- c) Realizar avaliação da mecânica respiratória após teste de broncoconstrição na prole;
- d) Examinar concentrações sanguíneas de calcemia, colesterolemia, glicose e triglicerídeos da prole;
- e) Avaliar os conteúdos de fibras colágenas e elásticas do pulmão e diafragma da prole.

4 JUSTIFICATIVA

As consequências deletérias que a obesidade pode promover nos indivíduos são evidentes, tanto em homens quanto em mulheres. Diante disso, inúmeros são os estudos que buscam investigar a complexidade da relação obesidade e corpo humano, aprofundando nos comportamentos alimentares e atividades do cotidiano.

A obesidade acomete relevante parte da população mundial, acarretando grandes problemas de saúde pública como a piora da qualidade de vida, surgimento de outras doenças, aumento de internalizações e do risco de morte. Outro ponto importante é o significativo aumento da porcentagem de obesidade e sobrepeso dentre as mulheres. Adicionalmente, destaca-se a impactante incidência da obesidade na infância. A literatura relata que a obesidade e sobrepeso acometidos durante os anos iniciais podem influenciar graves prejuízos para o indivíduo na fase adulta.

Dessa forma, no Brasil e no mundo, as entidades governamentais de saúde sempre reforçam a importância de se executar planos de investigação e intervenção para buscar combater essa moléstia que causa impacto tão prejudiciais aos indivíduos acometidos.

Alguns autores, recomendam que as investigações nessa temática devem envolver tudo que circunda o indivíduo, inclusive as condições ambientais antes e depois do seu nascimento. É frisado também que comportamentos e hábitos adversos antes e durante a gestação podem influenciar negativamente na saúde do feto nos momentos pré e pós-parto.

Assim, entendendo a grande complexidade dessa problemática, visamos executar esse projeto buscando elucidar as incógnitas que acercam a relação da prática de exercícios físicos, a programação fetal e o acometimento da obesidade na prole.

A obesidade é atualmente considerada uma das principais enfermidades que acomete a população a nível mundial. Essa doença promove consequências negativas no sistema respiratório. Isto se deve à consequência direta do tecido adiposo ou acontece sistemicamente por meio de mediadores humorais e arranjos metabólicos que modificam a dinâmica do pulmão.

O treinamento físico proporciona melhorias e manutenção da saúde com alterações benéficas em indivíduos sadios nos vários sistemas do organismo como por exemplo no sistema respiratório. Tendo em vista os malefícios da obesidade e os benefícios do treinamento físico, nós estudaremos os efeitos do treinamento físico de genitoras sobre o sistema respiratório da prole obesa ou não em animais experimentais.

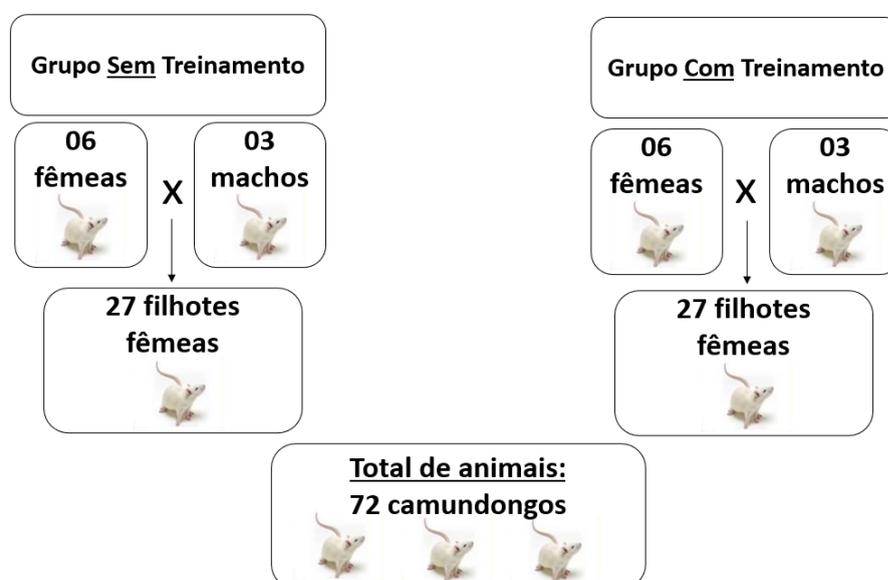
5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Animais

Neste estudo foram utilizados, no total, 72 camundongos da linhagem Swiss espécie *Mus musculus*. Deste total de animais, foram 12 fêmeas e 06 machos (matrizes/genitores) que geraram 54 filhotes fêmeas que foram os animais experimentais objeto da presente pesquisa (ver figura 2). Os genitores e matrizes foram obtidos do Biotério Central da UNIFAL-MG e mantidos em caixas de polipropileno com tampa de aço inoxidável, recebendo água e ração comercial *ad libitum* sob ciclo claro-escuro de 12h (luz 07:00-19:00) no Biotério do Laboratório de Experimentação Animal do Centro de Ciências Aplicada à Educação e Saúde (CeCAES) do IFSULDEMINAS - campus Muzambinho.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética de Uso Animal da UNIFAL-MG (CEUA UNIFAL-MG) com o registro de nº 03/2020 e foi conduzido de acordo com a declaração de Helsinki para o bem-estar de animais de experimentação.

Figura 2 – Quantidade total de animais experimentais do estudo.



Fonte: próprio autor.

5.2 Treinamento físico aeróbio

As fêmeas matrizes foram divididas em dois grupos: com treinamento aeróbico (TA, n = 06) e sem treinamento (NTA, n = 06). O treinamento físico aeróbio foi realizado em esteira automatizada para ratos e camundongos (Insight Ltda, Ribeirão Preto – SP,

Brasil) (ver figura 2), baseado no que foi descrito por Aquino-Junior *et al.* (2018) acrescido de adaptações. Inicialmente, os animais do grupo TA realizaram uma adaptação à esteira dos 47^o aos 50^o dias de vida, durante 10 minutos e à uma velocidade de 6m/min, sendo uma sessão por dia. O teste de esforço máximo (TEM), adaptado de Ferreira *et al.* (2007); Felipe e Felício (2016), com velocidade inicial de 0,36 Km/h (6 m/min) e incrementado com 0,18 Km/h (3 m/min) a cada 3 minutos durante a tarefa até o alcance máximo de 1,8 Km/h (30 m/min) na velocidade. Esse teste teve dois intuitos: o primeiro foi para determinar se o animal estava apto ou não ao exercício físico; e no segundo intuito, o teste foi utilizado para que fosse determinada a intensidade do treinamento físico e suas manipulações. Esse teste foi realizado aos 51^o dias de vida dos animais, seguido por 2 dias de descanso.

O treinamento aeróbico foi executado dos 54^o aos 81^o dias de vida, e composto por 20 sessões de treino. As matrizes treinaram sob intensidades leve e moderada de exercício, variando de 30% a 60% do que foi alcançado no teste de esforço máximo. Nas primeiras seis sessões a velocidade foi gradualmente aumentada, de 40% a 60% (equivalente a 0,72 a 1,08 km/h). A partir disso, a intensidade de treinamento permaneceu na faixa do 60% (equivalente à 1,08 km/h). As últimas cinco sessões de treino coincidiram com os cinco primeiros dias de gestação das matrizes e, pensando na saúde integral das matrizes e da prole, optou-se por regredir a intensidade de exercício passando gradativamente de 50% para 30% do esforço máximo encontrado no teste (regressiva e respectivamente equivalente à 0,9 km/h; 0,72 km/h; 0,54 km/h) conforme visto na literatura (SURITA; NASCIMENTO; SILVA, 2014) (ver figuras 3 e 4).

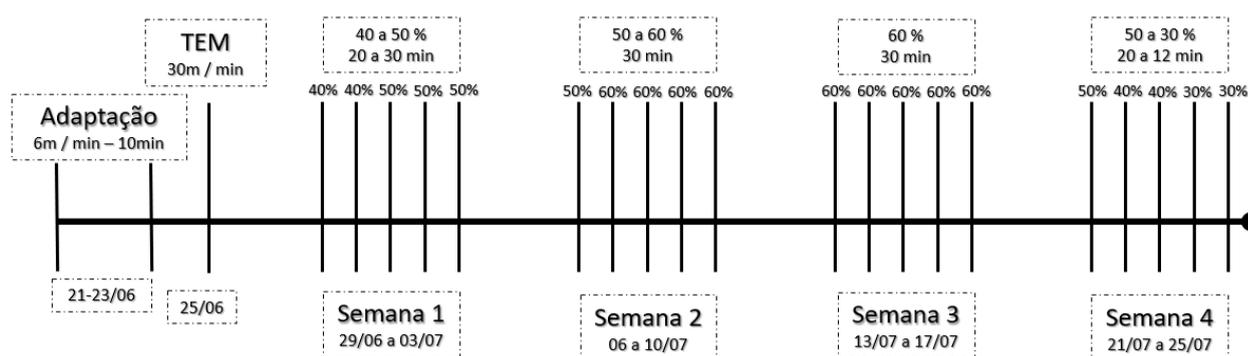
As adaptações feitas no protocolo de treinamento tiveram o intuito de resguardar o bem-estar das matrizes, bem como as perfeitas condições durante o período gestacional, anulando assim qualquer possibilidade de prejuízos às matrizes e/ou à prole.

Figura 3 – Esteira automatizada utilizada no protocolo de treinamento físico aeróbico do estudo.



Fonte: Insight (2021).

Figura 4 – Esquema do protocolo do treinamento aeróbico em esteira.



Fonte: próprio autor.

Legenda: TEM: Teste de Esforço Máximo; m: metros; min: minutos. Velocidades: 30% = 0,54 km/h; 40% = 0,72 km/h; 50% = 0,90 km/h; 60% = 1,08 km/h.

5.3 Indução, comprovação da obesidade e design dos grupos experimentais

As proles foram geradas a partir das matrizes dos grupos TA e NTA, seguindo o sistema de acasalamento Poiley, e mantendo a proporção de duas fêmeas para cada macho (2:1; ou seja, 12 fêmeas para 06 machos). Após o nascimento, realizou-se o ajuste de ninhada (1º dia pós-nascimento) desta forma: filhotes fêmeas foram distribuídos aleatoriamente em ninhadas de 03 ou 12 filhotes por mãe, formando assim os dois tipos de ninhadas: ninhada reduzida (NR) ($n = 03$ por mãe) e ninhada normal (NN) ($n = 12$ por mãe) para cada grupo de matrizes (TA e NTA) (ver figura 4).

Os 03 filhotes fêmeas por mãe tiveram maior disponibilidade de leite e conseqüentemente uma supernutrição pós-natal com elevação do potencial lactotrófico (RAJIA, *et al.*, 2010), e então, tornando-se obesas. Os 12 filhotes fêmeas por mãe não

se tornaram obesas, sendo definidos então como controle. O desmame dos filhotes ocorreu após 21 dias (3 semanas de vida). Dessa forma, formaram-se dois grandes grupos: Controle (C) e Obeso (O) provenientes de matrizes TA e NTA.

Desta forma, os grupos foram denominados de acordo com o treinamento físico realizado ou não nas mães, associado com a indução ou não da obesidade na prole (filhotes fêmeas). Assim são eles: Controle Treinamento Aeróbio (CTA), Obeso Treinamento Aeróbio (OTA), Controle Não Treinamento Aeróbio (NCTA) e Obeso Não Treinamento Aeróbio (NOTA) (ver figura 5).

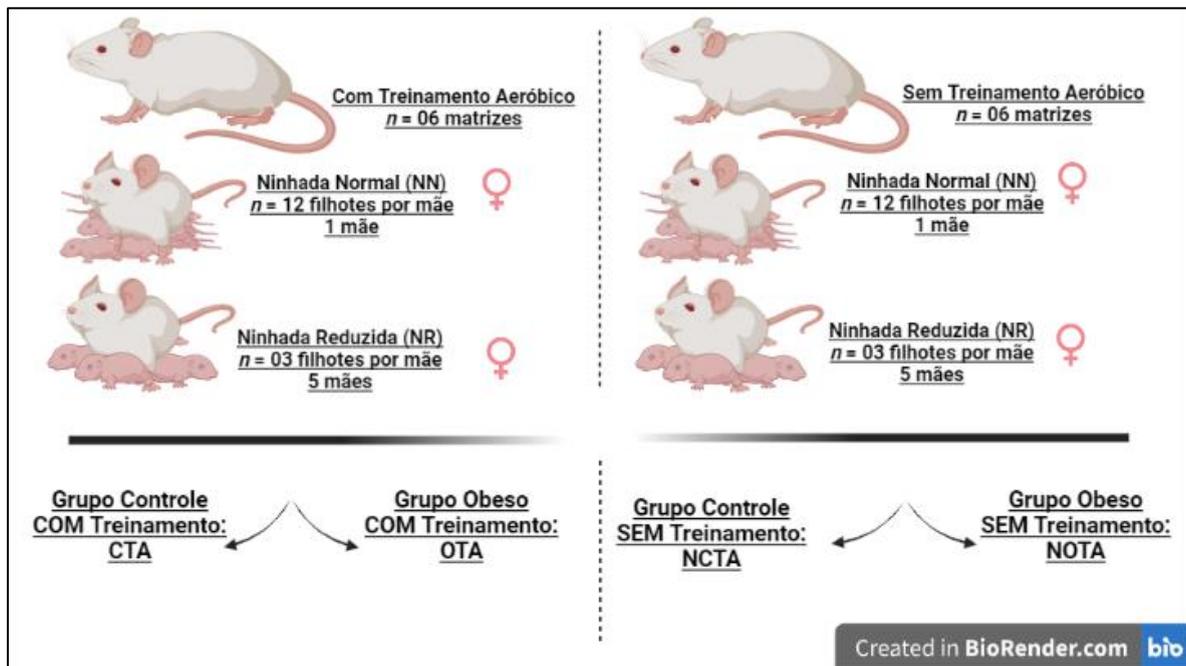
As medidas da massa corpórea (g) foram obtidas das matrizes no momento antes da gestação e dos filhotes fêmeas a cada semana até a quinta semana de vida.

Os filhotes, após o desmame, foram acomodados em 3 animais por caixa (dimensões: 30x20x13cm) e alimentados com ração comercial. Em poucos dias após essa separação os animais foram utilizados nos protocolos experimentais abaixo descritos. Em cada grupo as quantidades de animais para a realização dos protocolos foi: a) mecânica respiratória: $n = 5-7$; b) bioquímica: $n = 5$; c) histologia: $n = 2$; (ver figura 6). Chamamos atenção para que nos 5 animais usados para a bioquímica foram coletados os pulmões e diafragma, dessa forma o n para a histologia ($n = 2$) já está contido nos animais contabilizados na avaliação da bioquímica ($n = 5$).

Na figura 6 está apresentado uma visão geral da cronologia desta pesquisa e um resumo das etapas realizadas.

Um destaque para este estudo é que foi priorizada a investigação somente dos filhotes fêmeas devido ao fato da maior prevalência de obesidade infantil acometer meninas antes da menarca. Desta forma, os genitores, matrizes e filhotes machos foram eutanasiados.

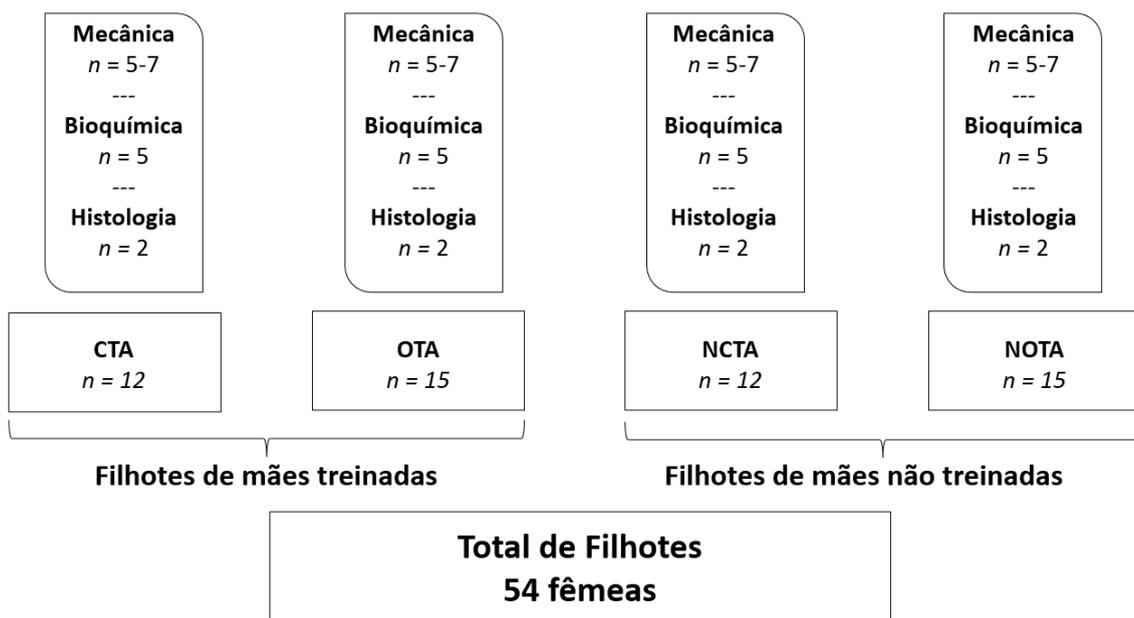
Figura 5 – Esquema do protocolo de indução da obesidade e esquema da formação dos grupos experimentais usados no presente estudo.



Fonte: próprio autor, criado através da plataforma *BioRender.com*.

Legenda: CTA = Controle Treinamento Aeróbico; OTA = Obeso Treinamento Aeróbico; NCTA = Controle Não Treinamento Aeróbico; e NOTA = Obeso Não Treinamento Aeróbico.

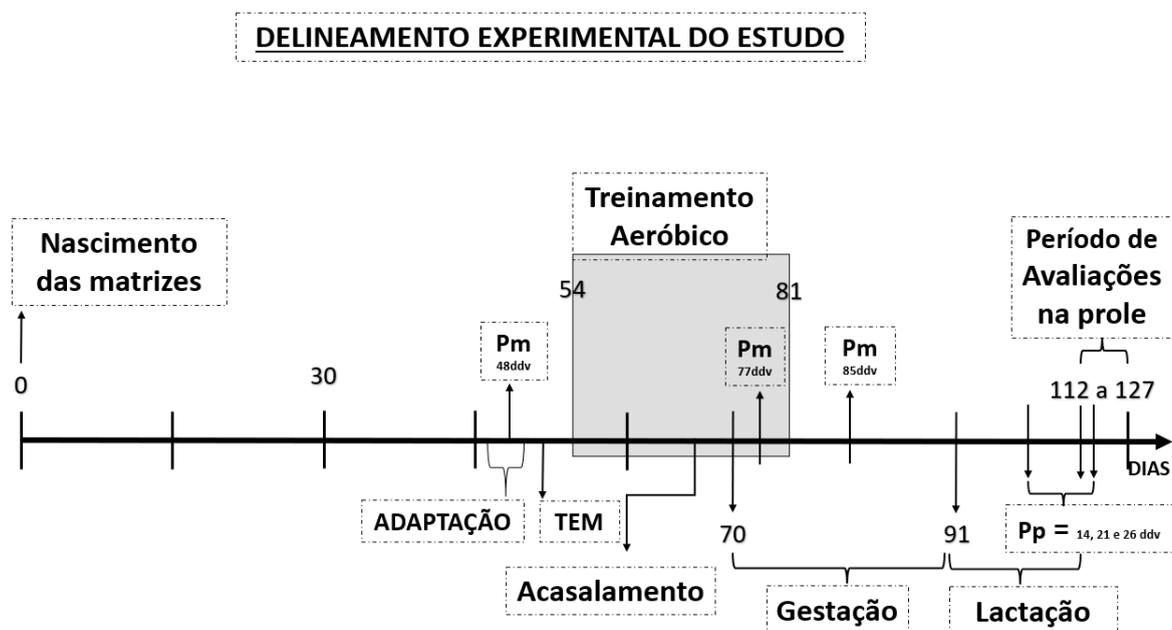
Figura 6 – Esquema contendo o número de animais usados em cada protocolo experimental do presente estudo.



Fonte: próprio autor.

Legenda: CTA = Controle Treinamento Aeróbico; OTA = Obeso Treinamento Aeróbico; NCTA = Controle Não Treinamento Aeróbico; e NOTA = Obeso Não Treinamento Aeróbico.

Figura 7 – Delineamento experimental do estudo



Fonte: próprio autor.

5.4 Mecânica respiratória

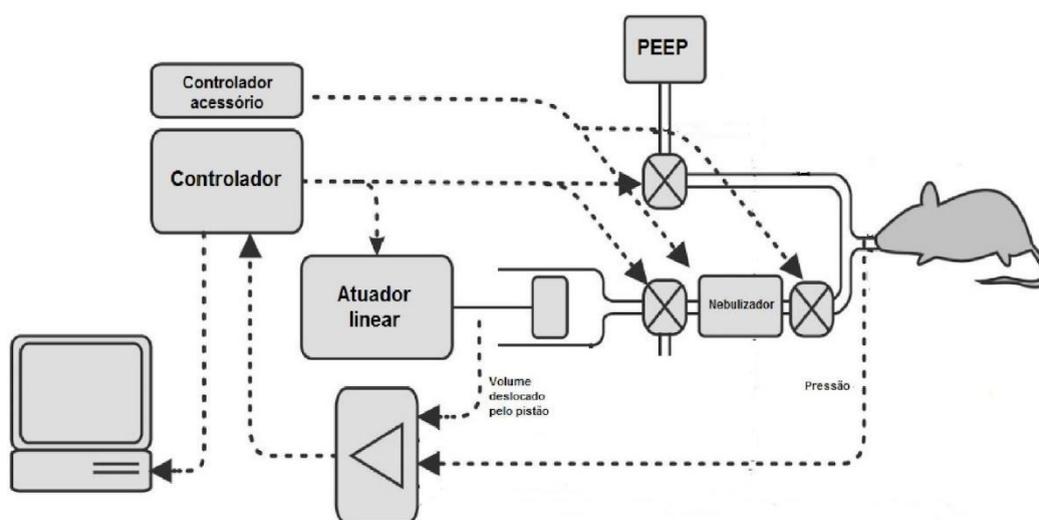
Os animais foram pesados e anestesiados com xilazina (12mg/kg) e tiopental sódico (50mg/kg) intraperitoneal (*i.p.*) para realização da traqueostomia. Os camundongos foram colocados em uma pequena mesa aquecida (*Heat Pad – Insight*) sob foco cirúrgico em decúbito dorsal, sendo seus membros fixados por fita adesiva. Os membros superiores foram mantidos horizontalmente abduzidos a 90 graus em relação ao corpo e os membros inferiores estendidos em diagonal. Após o posicionamento cirúrgico, foi realizada a introdução de uma cânula de metal com calibre de 18G, sendo a cânula fixada à traqueia por meio de fios de algodão. Posteriormente os animais foram mantidos anestesiados e conectados a um ventilador mecânico (*FlexiVent, SCIREQ, Montreal, Canadá, versão 5.00*) apropriado no módulo 1 para camundongos. Este aparelho permitiu a manutenção da vida em animais sedados e curarizados e atua na identificação da mecânica, por permitir que perturbações de volumes voluntários sejam aplicadas ao pulmão via traqueia (SHUESSLER; BATES, 1995; BATES; ALLEN, 2006).

Figura 8 – Ventilador para pequenos animais (FlexiVent, SCIREQ®, Canadá).



Fonte: Teixeira (2014).

Figura 9 - Diagrama do ventilador para pequenos animais (Flexivent-SCIREQ®), utilizado para a coleta de dados de mecânica respiratória.



Fonte: Adaptada de Shalaby *et al.* (2010).

Legenda: PEEP: vem do inglês, e significa Pressão Expiratória Final Positiva.

Os animais foram avaliados com o tórax fechado e ventilados com parâmetros constantes: volume corrente de 6mL/kg, frequência respiratória de 200 ciclos/minuto e pressão positiva expiratória final (PEEP) de 3cmH₂O conectado a uma válvula expiratória do ventilador. Posteriormente foi induzida a paralisia muscular pela administração de brometo de pancurônio (0,5mL/kg, *i.p.*; Cristália, São Paulo, Brasil) e a analgesia foi através da administração cloridrato de tramadol (50mg/kg, *i.p.*; Teuto, Goiás, Brasil). A analgesia foi monitorada de forma constante através do teste de ausência de resposta reflexa à dor (LOPES *et al.*, 2021). Neste teste realizava-se

compressões manuais na pata traseira do animal para verificar visualmente alguma, mesmo que mínima, resposta reflexa à dor.

A mecânica respiratória foi medida pela aplicação de volumes utilizando a técnica de oscilações forçadas (HANTOS, *et al.*, 1992). O ventilador mecânico para pequenos animais flexiVent® (*FlexiVent, SCIREQ, Montreal, Canadá, versão 5.00*) foi controlado por um computador, intercalando a ventilação mecânica com manobras (perturbações) controladas de pressão e volume, para obter medidas precisas e reprodutíveis de mecânica respiratória (REBER, *et al.*, 2012) (ver figuras 7 e 8). As perturbações utilizadas foram: a TLC (capacidade pulmonar total) na qual consta de uma inflação profunda dos pulmões a uma determinada pressão, seguida de uma retenção da ventilação normalmente de alguns segundos, utilizada antes das nebulizações com o objetivo de abrir espaços aéreos e padronizar o volume, para que a droga se difunde de maneira homogênea nos pulmões; Quick-prime-3 que é uma manobra que consiste na imposição de um fluxo de ar com amplitude correspondente à soma de senóides de frequências entre 1,00 a 20,5 Hz ao longo de 3 segundos e SnapShot que é uma onda de oscilação forçada senoidal (frequência única), que corresponde à frequência respiratória do animal e tem por objetivo proporcionar resultados precisos (CHEN, *et al.*, 2006).

Foi calculada a impedância do sistema respiratório (Z_{rs}) dos animais de cada grupo, e para o cálculo dos dados foram feitas correções, considerando as perdas devido à compressibilidade dos gases (BATES, *et al.*, 1989). Foram coletados: a posição do pistão (V_{cyl}) e a pressão interna do cilindro (P_{cyl}) (HANTOS, *et al.*, 1992). V_{cyl} foi corrigido para obter o volume que efetivamente chega ao animal (V) e P_{cyl} foi corrigido, nos dando o valor de P_{ao} pressão de abertura das vias aéreas. Por intermédio da derivação no tempo de V , foi obtido o fluxo (V').

Para análise das impedâncias obtidas, será utilizado o modelo de fase constante, (HANTOS, *et al.*, 1992). Onde R_{aw} é a resistência de vias aéreas, I_{aw} é a inertância das vias aéreas ou inércia do ar, G caracteriza a dissipação de energia nos tecidos pulmonares, H caracteriza a energia acumulada nos tecidos do pulmão, i é a unidade imaginária, f é a frequência.

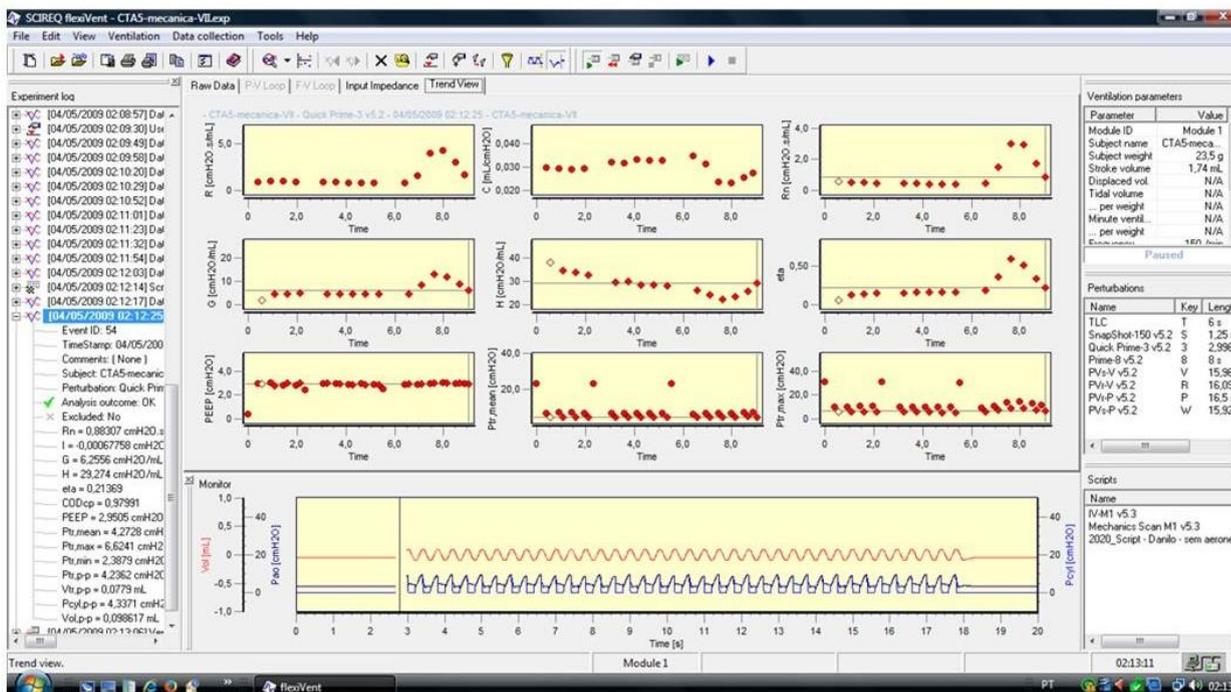
Foram obtidos com o ventilador os parâmetros:

- R_{tot} – resistência total do sistema respiratório;
- E – elastância total;
- C – complacência total;

- R_{aw} - resistência de via aérea nos permite a análise isoladamente das vias aéreas sem a interferência do tecido pulmonar;
- G_{tis} - resistência tecidual;
- H_{tis} - elastância do tecido pulmonar.

A ventilação do animal iniciou-se com o intuito de permitir uma adaptação ao animal, e teve duração de aproximadamente 5 minutos. Isso também favorece para o ajuste do sistema respiratório ao fluxo recebido e verificação de possíveis vazamentos, obstruções e correções no posicionamento. O ventilador mecânico manteve os camundongos ventilados e somente interrompeu essa ventilação em tempos determinados para aplicar perturbações e assim obter os valores acima descritos. Todos os grupos receberam administração via intraperitoneal de salina (Sal, 09% NaCl) e o broncoconstritor metacolina (MCh, *acetyl- β -methylcholine chloride*, Sigma®- Aldrich, St. Louis, USA) (AL-IZKI *et al.*, 2009) na concentração de 20mg/mL para averiguar a broncoconstrição. Primeiramente foram determinados os valores basais e posteriormente as medidas dos parâmetros respiratórios após administração com solução salina e MCh. Logo após 5 segundos das administrações das referidas substâncias, os valores da mecânica respiratória foram registrados. Os registros foram repetidos de 15 em 15 segundos até o tempo de 75 segundos para cada substância. O tempo de intervalo entre a administração delas foi de 2 minutos. Os animais foram posicionados na mesa cirúrgica para realização da traqueostomia. Após a exposição da traqueia, os animais foram posicionados próximos ao ventilador mecânico e em seguida conectou-se a cânula de metal à traqueia. Adiante, iniciou-se a ventilação mecânica aos animais por cinco minutos para permitir a manutenção da vida e uma adaptação do sistema respiratório deles. Após esta etapa, deu-se início às análises dos parâmetros da mecânica respiratória por meio do software. Fez-se análises em três momentos distintos, os quais foram referentes às condições basais, após administração de salina, e após a administração de metacolina, seguindo a dinâmica supracitada neste parágrafo. E assim, a partir desse processo, registrou-se os valores dos parâmetros da mecânica respiratória obtidos através das perturbações ao sistema respiratório implicadas pelo software e equipamento FlexiVenti. Ao ter finalizado a coleta dos dados, realizou-se a toracotomia e seccionou-se a artéria aorta levando à hemorragia maciça e posterior eutanásia.

Figura 10 – Imagem da captura de tela do software do Flexivent.



Fonte: próprio autor.

Legenda: Pontos vermelhos sinalizam os valores coletados pelo software nas três condições (basal, salina ou metacolina). Cada retângulo visto é referente a um parâmetro da mecânica respiratória obtidos após às perturbações do sistema respiratório.

Após o registro dos valores, foram realizadas coletas e análises desses dados. Para cada perturbação (SnapShot e Quick Prime) aplicada houve um coeficiente de determinação (COD) registrado pelo software e foram aceitos valores das medições cujo coeficientes eram iguais ou maiores a 0,90. Logo após, dentre os valores selecionados de acordo com o COD, ainda foi escolhido o maior valor para o referido parâmetro respiratório. Posteriormente estes valores selecionados foram plotados no software GraphPad Prism 8.0.1.

5.5 Análises bioquímica do sangue: calcemia, glicemia, colesterolemia total e de trigliceridemia.

As amostras utilizadas para a coleta sanguínea vieram de outros animais que não foram submetidos à mecânica ventilatória. Desta forma, evitou-se que as perturbações aplicadas no sistema pulmonar dos animais pudessem mascarar os

efeitos a serem estudados do treinamento físico e da obesidade, além de interferências dos vários fármacos usados nos procedimentos de mecânica respiratória.

Os animais estavam em jejum de 8 horas e foram anestesiados com isoflurano (anestesia inalatória). Novamente, para a confirmação da anestesia foi constantemente realizado o teste de ausência de resposta reflexa à dor. Posteriormente o animal foi posicionado em mesa cirúrgica e em seguida iniciou-se a cirurgia de abertura do abdômen. A seringa de coleta e o micro tubo de armazenagem foram heparinizados (1000 UI). A coleta do sangue foi realizada por punção cardíaca antes da retirada dos pulmões. Posteriormente, a veia cava e artéria aorta abdominal foram seccionadas no intuito de permitir hemorragia maciça para levar o animal à morte (eutanasia). O sangue coletado, cerca de 1 mL, foi mantido em micro tubos heparinizados, imersos em gelo picado e foi centrifugado a 1500 rpm por 5 minutos. Em seguida o plasma foi coletado, congelado e mantido em freezer a 80°C negativos.

As concentrações plasmáticas de cálcio, colesterol total, glicose e triglicédeos foram determinadas por teste enzimático-colorimétrico, em dose única, dos animais dos diferentes grupos. Sendo para isso usados kits comerciais. A leitura das amostras no espectrofotômetro e os cálculos dos valores das amostras foram realizados de acordo com as indicações do fabricante dos kits. Os procedimentos do teste enzimático-colorimétrico para cada parâmetro foram conduzidos exatamente de acordo como está descrito nos manuais de instruções de uso de cada kit (INTERTECK INTERNACIONAL IMP. EMP., 2016), (LABTEST DIAGNÓSTICA, 2014), (LABTEST DIAGNÓSTICA, 2011) e (LABTEST DIAGNÓSTICA, 2019). Os procedimentos comuns para os testes foram: utilizou-se 3 tubos de ensaio; no primeiro tubo, denominado Branco, inseriu-se 1,0 mL do reagente; no segundo tubo, denominado Teste, inseriu-se 0,01 mL de amostra e mais 1,0 mL de reagente; e no terceiro tubo, denominado Padrão, inseriu-se 0,01 mL de padrão e mais 1,0 mL de reagente. Acertando o zero com o branco, determinou-se as absorvâncias do teste e padrão à 650nm para o teste de cálcio; à 500nm para o teste de colesterol total; e à 505nm para os testes de glicose e triglicérides. Após a medição da absorvância, foram realizados os cálculos seguindo também as instruções nos respectivos manuais de uso dos kits de testes enzimático-colorimétricos para determinação das concentrações plasmáticas de cálcio, colesterol total, glicose e triglicérides. Logo em seguida, os dados foram analisados e plotados no software GraphPad Prism 8.0.1.

5.6 Análise dos conteúdos de fibras elásticas e colágenas

Os pulmões e diafragma que foram coletados para cortes histológicos após a retirada do sangue e eutanásia (ver item acima 2.6). Após a laparotomia, o tórax foi aberto e os pulmões e diafragma expostos. Os pulmões foram removidos em bloco (coração e pulmão) e o diafragma foi coletado de maneira a se obter a maior quantidade de tecido muscular o mais próximo possível das costelas.

Os pulmões foram separados do coração, e o pulmão direito foi fixado em formalina 10% (pH = 7,4 e 0,1M) durante 48 horas e em seguida foi imerso em álcool 70%. Posteriormente o material foi destinado à bateria de desidratação em série de álcool e xilol para posteriormente embebê-lo em parafina.

Quando as amostras já se encontravam solidificadas foram feitos cortes histológicos com espessura 5µm para a análise e quantificação do conteúdo de fibras elásticas e colágenas das vias aéreas e vasos sanguíneos dos pulmões, e do tecido muscular e vasos sanguíneos do diafragma.

Após as lâminas do tecido pulmonar e do diafragma terem sido confeccionadas, as fibras colágenas foram coradas com picrossirius (JUNQUEIRA, *et al.*, 1978) e as fibras elásticas com orceína (NAKAMURA, *et al.*, 1977).

As leituras das lâminas foram realizadas em microscópio óptico (Olympus BX43, Olympus Optical do Brasil Ltda, São Paulo/SP, Brasil), e as fotomicrografias foram feitas utilizando a câmera digital acoplada ao microscópio (Olympus SC100, Olympus Optical do Brasil Ltda, São Paulo/SP, Brasil) e o software cellSens Entry (Olympus Optical do Brasil Ltda, São Paulo/SP, Brasil). Posteriormente, as análises do conteúdo de fibras elásticas e colágenas foram realizadas através do software Image J (National Institutes of Health – NIH – Maryland, EUA).

Todos os dados foram analisados com testes estatísticos utilizando o programa Graphpad Prism 8.0.1.

5.7 Análises dos dados

Os dados obtidos neste estudo foram inseridos em planilhas do software Excel (Microsoft Corporation, EUA) e planilhas Google Sheets da plataforma Google e posteriormente processados utilizando-se do software GraphPad Prism 8.0.1 (GraphPad, San Diego, CA, EUA) para a realização das análises estatísticas e gráficos.

Os valores dos resultados das avaliações feitas nas matrizes (dos parâmetros massa corpórea e quantidade de filhotes no parto) foram expressos como média \pm erro padrão da média (EPM) e foi feito o teste estatístico Teste t de student.

Os dados de massa corpórea da prole foram analisados por meio do teste estatístico ANOVA (Two-Way) seguido de pós-teste de Bonferroni. Para os demais valores de mecânica respiratória, perfil bioquímico e análise histológica foram feitos os testes estatísticos ANOVA (One-Way) seguido de pós-teste de Bonferroni para comparações múltiplas. Para todas as análises foi adotado diferenças significativas para valor de $p < 0,05$.

6 RESULTADOS

Os resultados encontrados neste estudo estão nos subitens abaixo e eles estarão apresentados como média \pm EPM.

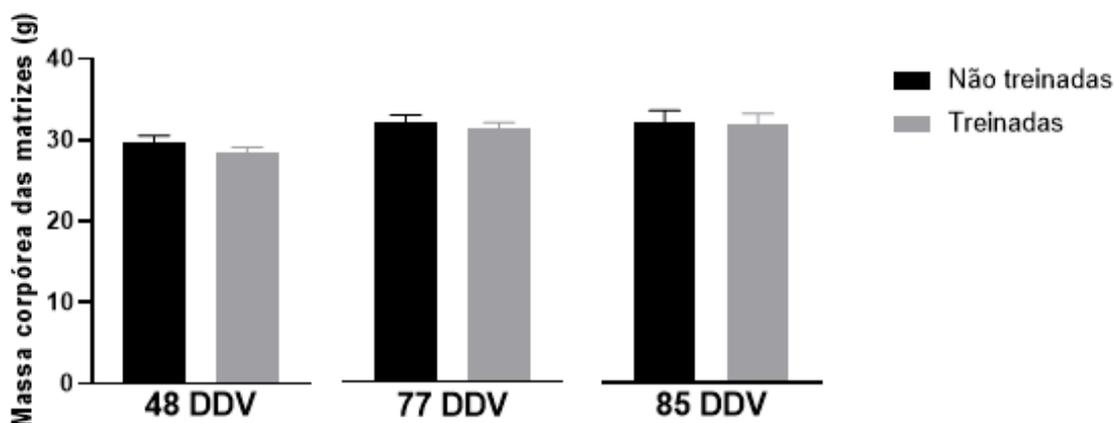
6.1 Massa corpórea e quantidade de filhotes das matrizes (mães)

Neste estudo foram utilizadas 12 matrizes, sendo que 6 delas realizaram o treinamento físico aeróbico e as demais não realizaram. Destaca-se que todas as matrizes foram acasaladas, pariram os filhotes, e os filhotes fêmeas se tornaram o objeto desta pesquisa.

Ao longo dos experimentos, as matrizes não treinadas e as treinadas não apresentaram diferenças significativas na massa corpórea (g). No gráfico 1 estão apresentados os valores das medições de massa corpórea das matrizes em três momentos: aos 48, aos 77 e aos 85 dias de vida (DDV), que se referem respectivamente aos momentos antes, durante e após o fim do período de treinamento físico aeróbico (ver gráfico 1). Na medição no momento antes do período de treinamento (aos 48 DDV) as matrizes apresentaram valores de $29,77 \pm 0,78$ e $28,43 \pm 0,69$ para as matrizes não treinadas e treinadas, respectivamente. Na medição de massa corpórea (g) durante o período de treinamento (aos 77 DDV), as matrizes não treinadas e treinadas apresentaram uma média de $32,03 \pm 0,88$ e $31,20 \pm 0,77$ respectivamente. E por fim, na medição de massa corpórea após o fim do treinamento aeróbico (aos 85 DDV), as matrizes apresentaram a média de $40,15 \pm 1,82$ e $39,85 \pm 1,68$, respectivamente para o grupo das matrizes não treinadas e das matrizes treinadas. Nenhum dos valores descritos acima apresentaram diferenças estatísticas entre si. Assim verifica-se para esses animais que o treinamento físico aeróbico não influenciou na massa corpórea.

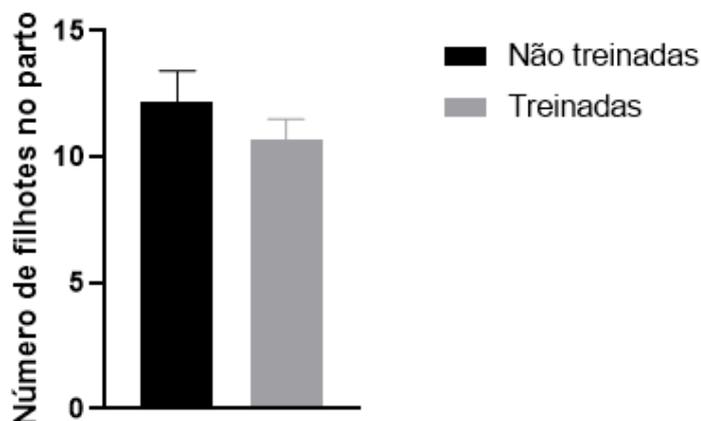
Outro dado relevante é o número de filhotes. As matrizes não treinadas pariram uma média de $12,17 \pm 1,24$ filhotes e as matrizes treinadas pariram uma média de $10,67 \pm 0,84$ filhotes. Nenhum dos valores apresentaram diferenças estatísticas entre si. Isso mostra que o treinamento físico aeróbico não provocou nenhuma interferência positiva ou negativa na quantidade de filhotes nascidos de cada fêmea matriz (ver gráfico 2).

Gráfico 1 – Valores da massa corpórea das matrizes (mães) não treinadas (NTA) e das matrizes treinadas (TA) aos 48, 77 e 85 dias de vida (DDV).



Fonte: próprio autor. Os valores estão apresentados como média e erro padrão da média. A ausência de símbolos indica que os valores não são significativamente diferentes ($p \geq 0,05$).

Gráfico 2 – Quantidade de filhotes das matrizes (mães). Os números correspondem a média e erro padrão da média.



Fonte: próprio autor.

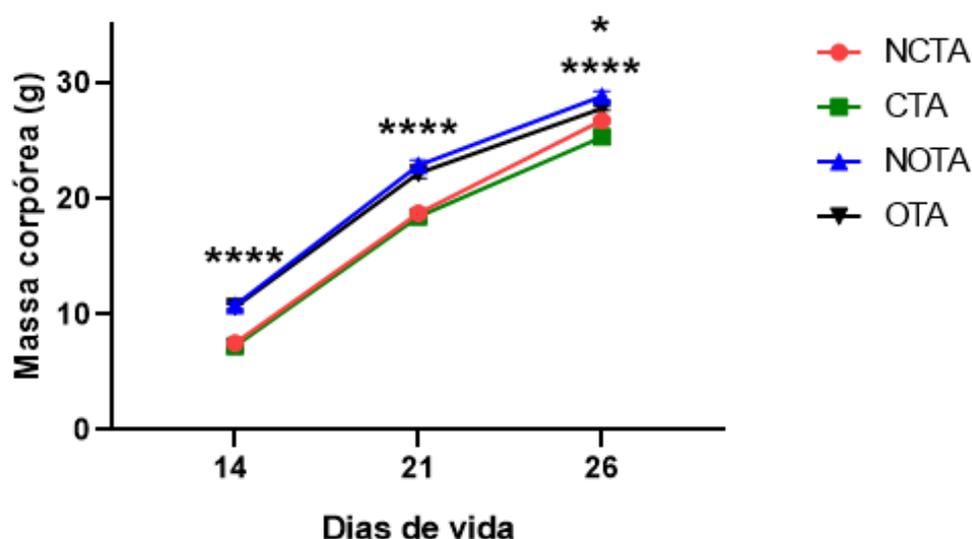
A ausência de símbolos indica que os valores não são estatisticamente diferentes ($p \geq 0,05$).

6.2 Comprovação da obesidade

A comprovação da indução da obesidade foi realizada por meio da verificação da massa corpórea (g) dos filhotes fêmeas do nosso estudo aos 14, 21 e 26º dias de vida (DDV). O Gráfico 3 apresenta estes e a diferença entre os grupos controles e obesos. Na medição aos 14 DDV os filhotes apresentaram valores de $7,52 \pm 0,11$ para o grupo NCTA; $7,24 \pm 0,24$ para CTA; $10,77 \pm 0,27$ para NOTA; e $10,62 \pm 0,25$ g para OTA. Já na medição aos 21 DDV a prole apresentou média \pm EPM de $18,75 \pm 0,26$;

18,45 ± 0,43; 22,89 ± 0,43; 22,21 ± 0,46g, respectivamente para os grupos NCTA, CTA, NOTA e OTA. Por fim, aos 26 DDV, a média ± EPM da massa corpórea foi de 26,75 ± 0,20 para NCTA; 25,33 ± 0,37 para CTA; 28,86 ± 0,39 para NOTA; e 27,80 ± 0,15g para OTA. Com esses dados, observa-se que o treinamento físico realizado pelas mães não preveniu o desenvolvimento da obesidade dos filhotes fêmeas nos grupos de ninhada reduzida, ou seja, nos grupos NOTA e OTA.

Gráfico 3 – Valores da massa corpórea da prole controle (ninhada normal) e prole obesa (ninhada reduzida) aos 14, 21 e 26 dias de vida (DDV).



Fonte: próprio autor.

Legenda: os valores correspondem a média e erro padrão da média. Controle Não Treinamento Aeróbio: NCTA; Controle Treinamento Aeróbio: CTA; Obeso Não Treinamento Aeróbio: NOTA; e Obeso Treinamento Aeróbio: OTA. Os símbolos **** indicam que houve diferenças estatísticas entre os grupos NCTA vs NOTA, NCTA vs OTA, nos momentos 14 e 21 DDV, cujos valores de $p < 0,0001$; o símbolo * indica que houve diferença estatística entre NCTA vs CTA aos 26 DDV, cujo $p = 0,0192$; os símbolos *** indicam que houve diferença estatística entre NCTA vs NOTA aos 26 DDV, cujo valor de $p = 0,0001$.

6.3 Mecânica respiratória

A mecânica respiratória foi feita após o animal (prole obtida de mães com e sem treinamento físico aeróbio) ser anestesiado e traqueostomizado usando um ventilador mecânico para pequenos animais. Logo que o animal foi conectado a este aparelho foram obtidos valores referentes à condição basal, e apresentaram algumas diferenças significativas entre os grupos. Na Tabela 1, estão apresentados os resultados das avaliações de mecânica durante a condição basal. As diferenças estatísticas encontradas podem estar relacionadas à administração dos fármacos pancurônio e tramadol, pois nos registros a seguir não foi notada tal diferença.

Tabela 1 – Apresenta os resultados dos grupos objeto do estudo na condição basal na avaliação de mecânica respiratória.

BASAL	NCTA	CTA	NOTA	OTA
Rtot (cmH ₂ O/ml)	1,18±0,18	1,07±0,09	1,48±0,48	1,11±0,05
E (cmH ₂ O/ml)	32,61±2,86	38,84±5,08	66,20±2,86	38,82±3,51
C (cmH ₂ O/ml)	0,03±0,003	0,02±0,003	0,03±0,009	0,02±0,002
Raw (cmH ₂ O/ml)	0,72±0,17***	0,58±0,04****	2,34±0,33	0,56±0,05###
Gtis (cmH ₂ O/ml)	5,32±0,66	6,01±0,62	5,26±0,36	6,21±0,64
Htis (cmH ₂ O/ml)	32,37±3,30	35,13±6,39	32,73±2,89	34,70±3,05

Fonte: próprio autor

Legenda: NCTA: Controle Não Treinamento Aeróbio; CTA: Controle Treinamento Aeróbio; NOTA: Obeso Não Treinamento Aeróbio; e OTA: Obeso Treinamento Aeróbio; Rtot: resistência total; E: elastância total; C: complacência total; Raw: resistência das vias aéreas; Gtis: resistência tecidual; Htis: elastância do tecido pulmonar. Os símbolos *** indicam diferença estatística entre os grupos NOTA vs NCTA, com $p = 0,0008$; ### indicam diferença estatística entre NOTA vs OTA, com $p = 0,0001$; **** indicam diferença estatística entre NOTA vs CTA, com $p < 0,0001$.

Logo após, foram feitos os registros com a administração de salina i.p. e tais valores não apresentaram diferenças significativas entre os grupos, como visto na Tabela 2.

Tabela 2 – Apresenta os resultados dos grupos objeto do estudo após administração de salina na avaliação de mecânica respiratória.

SALINA	NCTA	CTA	NOTA	OTA
Rtot (cmH ₂ O/ml)	0,91±0,12	1,04±0,11	1,01±0,18	1,02±0,10
E (cmH ₂ O/ml)	35,11±3,83	32,60±3,43	33,48±3,97	36,34±3,55
C (cmH ₂ O/ml)	0,03±0,003	0,03±0,003	0,03±0,004	0,02±0,002
Raw (cmH ₂ O/ml)	0,83±0,24	0,53±0,03	0,45±0,02	0,53±0,08
Gtis (cmH ₂ O/ml)	4,83±0,41	5,37±0,31	6,11±0,27	5,37±0,25
Htis (cmH ₂ O/ml)	31,13±3,08	40,39±7,28	31,28±2,73	31,94±2,77

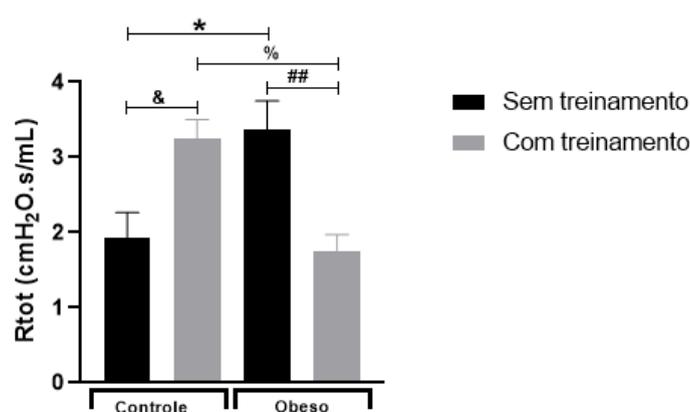
Fonte: próprio autor.

Legenda: NCTA: Controle Não Treinamento Aeróbio; CTA: Controle Treinamento Aeróbio; NOTA: Obeso Não Treinamento Aeróbio; e OTA: Obeso Treinamento Aeróbio; Rtot: resistência total; E: elastância total; C: complacência total; Raw: resistência das vias aéreas; Gtis: resistência tecidual; Htis: elastância do tecido pulmonar. A ausência de símbolos indica que não houve diferenças estatísticas entre os grupos.

No entanto, após a administração de metacolina (MCh), foi possível observar diferenças significativas em alguns parâmetros da mecânica respiratória, como na resistência total (Rtot), resistência das vias aéreas (Raw) e resistência tecidual (Gtis). E as diferenças estatísticas entre os valores de cada parâmetro estão assinaladas nos seus respectivos gráficos expostos abaixo.

Os resultados da Rtot (cmH₂O.s/mL) estão mostrados no Gráfico 4. O grupo NCTA apresentou valor igual a $1,92 \pm 0,33$; no grupo CTA foi de $3,24 \pm 0,25$; no grupo NOTA foi de $3,37 \pm 0,37$; e no grupo OTA foi de $1,74 \pm 0,22$. Os valores de Raw (cmH₂O.s/mL) são vistos no Gráfico 5. O grupo NCTA apresentou valor igual a $1,48 \pm 0,15$; no grupo CTA foi igual a $2,27 \pm 0,27$; no grupo NOTA foi igual $2,55 \pm 0,30$; e no grupo OTA foi igual a $1,11 \pm 0,14$. Assim, o grupo CTA pode ter tido uma resposta aumentada à MCh nos parâmetros Rtot e Raw devido ao efeito herdado do treinamento físico aeróbico realizado pelas mães. No grupo NOTA, também houve incremento nos parâmetros Rtot e Raw, mas como consequência do efeito da obesidade acometida nos animais deste grupo. Em contrapartida, no grupo OTA teve uma atenuação nos valores de Rtot e Raw, impactado possivelmente pela coexistência dos efeitos do treinamento físico aeróbico feitos pelas mães e da indução da obesidade

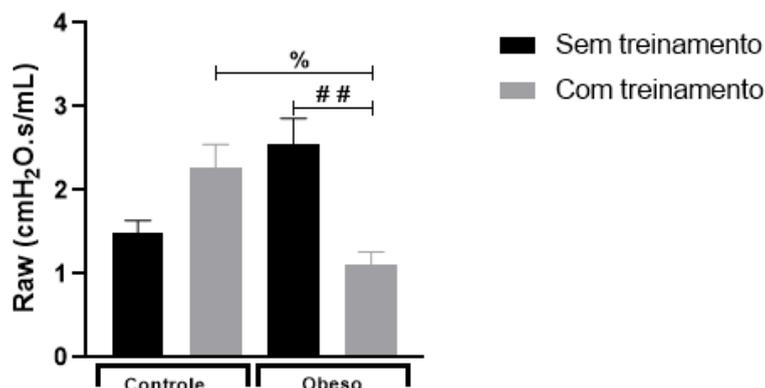
Gráfico 4 – Valores de Rtot na prole controle e obesa provenientes de mães treinadas e não treinadas.



Fonte: próprio autor.

Legenda: os valores estão apresentados como média e EPM. NCTA: Controle Não Treinamento Aeróbico; CTA: Controle Treinamento Aeróbico; NOTA: Obeso Não Treinamento Aeróbico; e OTA: Obeso Treinamento Aeróbico. O & indica diferença estatística entre NCTA vs CTA, cujo $p = 0,0372$; o * indica diferença estatística entre o grupo NCTA vs NOTA, cujo $p = 0,0245$; o % indica diferença estatística entre CTA vs OTA, cujo $p = 0,0145$; o ## indica diferença estatística entre NOTA vs OTA, cujo $p = 0,0098$. ANOVA One-Way, seguido de *Post test* de Bonferroni.

Gráfico 5 – Valores do parâmetro Raw nos grupos do estudo.

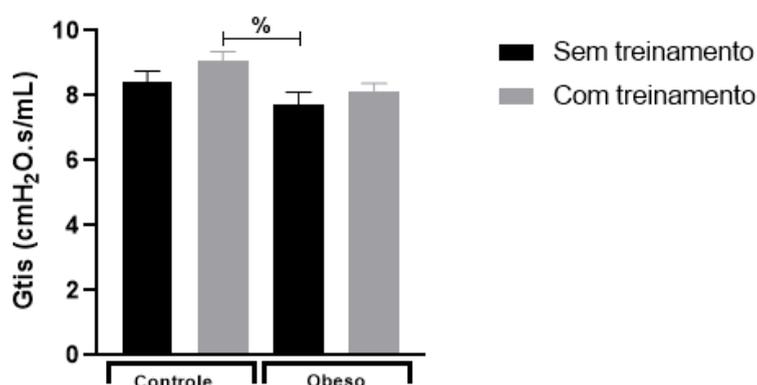


Fonte: próprio autor.

Legenda: Os valores estão apresentados como média e EPM. NCTA: Controle Não Treinamento Aeróbio; CTA: Controle Treinamento Aeróbio; NOTA: Obeso Não Treinamento Aeróbio; e OTA: Obeso Treinamento Aeróbio. O % indica diferença entre CTA vs OTA, cujo $p = 0,0276$; o ## indica diferença estatística entre NOTA vs OTA, cujo $p = 0,0036$. ANOVA One-Way, seguido de *Post test* de Bonferroni.

No Gráfico 6 estão os valores da resistência tecidual (Gtis) (cmH₂O.s/mL). O grupo NCTA apresentou valor de $8,40 \pm 0,34$; no grupo CTA foi de $9,07 \pm 0,28$; no grupo NOTA foi $7,73 \pm 0,37$; e no grupo OTA foi de $8,14 \pm 0,23$. Neste parâmetro da mecânica respiratória, não se observou a tendência ocorrida nas resistências vistas anteriormente.

Gráfico 6 – Valores do parâmetro Gtis nos grupos do estudo.



Fonte: próprio autor.

Legenda: os valores estão apresentados como média e EPM. NCTA: Controle Não Treinamento Aeróbio; CTA: Controle Treinamento Aeróbio; NOTA: Obeso Não Treinamento Aeróbio; e OTA: Obeso Treinamento Aeróbio. O % indica diferença estatística entre CTA vs NOTA, cujo $p = 0,0315$. ANOVA One-Way, seguido de *Post test* de Bonferroni.

Nos demais parâmetros avaliados da mecânica respiratória não foram encontrados diferenças significativas após a administração de MCh, como visto abaixo na Tabela 3.

TABELA 3 - Valores do parâmetro complacência, elastância e elastância do tecido pulmonar (C, E e Htis) nos grupos do estudo.

MCh	NCTA	CTA	NOTA	OTA
C (cmH ₂ O.s/mL)	0,031±0,002	0,031±0,003	0,032±0,003	0,029±0,002
E (cmH ₂ O.s/mL)	37,55±2,50	45,58±4,41	42,20±5,52	46,15±9,30
Htis (cmH ₂ O.s/mL)	32,46±3,03	30,79±4,14	35,18±3,42	36,42±4,55

Fonte: próprio autor.

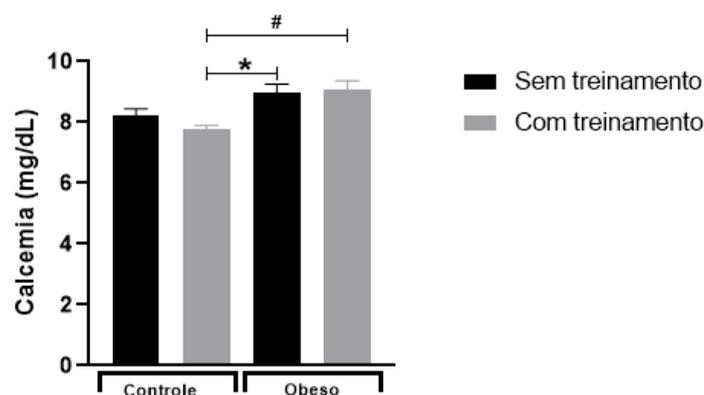
Legenda: os valores estão apresentados como média e EPM. NCTA: Controle Não Treinamento Aeróbio; CTA: Controle Treinamento Aeróbio; NOTA: Obeso Não Treinamento Aeróbio; e OTA: Obeso Treinamento Aeróbio. A ausência de símbolos indica que não houve diferenças estatísticas entre os grupos.

6.4 Perfil bioquímico

A seguir, estão os valores encontrados na análise da calcemia (mg/dL) nos diferentes grupos (ver Gráfico 7). O grupo NCTA apresentou valor igual a $8,21 \pm 0,23$; no grupo CTA foi igual a $7,76 \pm 0,12$; no grupo NOTA foi igual a $8,97 \pm 0,28$; e no grupo OTA foi igual a $9,05 \pm 0,31$. A obesidade na prole pode ter favorecido no aumento da concentração plasmática de cálcio nos grupos obesos quando comparados aos grupos controles.

O Gráfico 8 apresenta os valores encontrados na análise da glicemia (mg/dL) nos diferentes grupos. O grupo NCTA apresentou valor de $120,4 \pm 6,04$; no grupo CTA foi igual a $154,9 \pm 3,98$; no grupo NOTA foi igual a $153,2 \pm 10,64$; e no grupo OTA foi igual a $165,1 \pm 3,11$. Ao comparar o grupo controle sem treinamento (NCTA) com os demais grupos, podemos notar que no grupo CTA teve aumento na glicemia da prole que pode ter sido impactada pelos efeitos do treinamento físico aeróbico realizado pelas mães. No grupo NOTA, também houve incremento nos valores de glicemia indicando influência da obesidade no nível glicêmico desses animais. Já o treinamento físico aeróbico realizado nas mães coexistente à obesidade na prole favoreceu para o aumento da glicemia no grupo OTA.

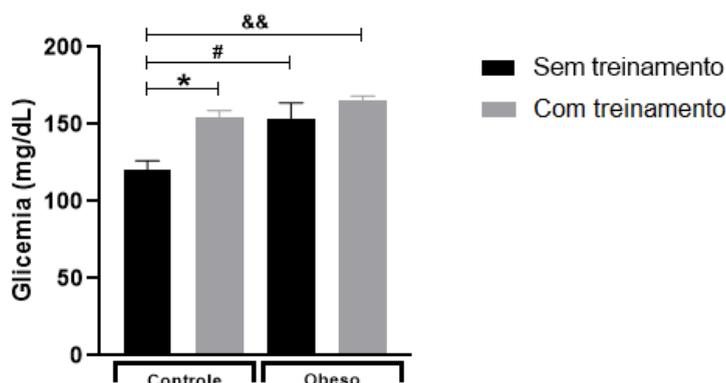
Gráfico 7 – Valores do parâmetro cálcio plasmático nos grupos do estudo.



Fonte: próprio autor.

Legenda: os valores estão apresentados como média e EPM. NCTA: Controle Não Treinamento Aeróbio; CTA: Controle Treinamento Aeróbio; NOTA: Obeso Não Treinamento Aeróbio; e OTA: Obeso Treinamento Aeróbio. O * indica diferença estatística entre o grupo CTA e NOTA, cujo $p = 0,025$; e o # indica diferença entre o CTA e OTA, cujo $p = 0,010$. ANOVA One-Way, seguido de *Post test* de Bonferroni.

Gráfico 8 – Valores do parâmetro glicose plasmática nos grupos do estudo.



Fonte: próprio autor.

Legenda: os valores estão apresentados como média e EPM. NCTA: Controle Não Treinamento Aeróbio; CTA: Controle Treinamento Aeróbio; NOTA: Obeso Não Treinamento Aeróbio; e OTA: Obeso Treinamento Aeróbio. O * indica diferença estatística entre o grupo NCTA vs CTA, cujo $p = 0,0119$; o # indica diferença entre o NCTA vs NOTA, cujo $p = 0,0174$; e && indicam diferença estatística entre NCTA vs OTA, cujo $p = 0,0012$. ANOVA One-Way, seguido de *Post test* de Bonferroni.

A seguir, a Tabela 4 apresenta os valores encontrados na análise da trigliceridemia e colesterolemia nos diferentes grupos e que não houve diferença estatística entre eles.

Tabela 4 – Valores da trigliceridemia e colesterolemia nos grupos do estudo. Estão apresentados como média e EPM.

	NCTA	CTA	NOTA	OTA
Trigliceridemia (mg/dL)	127,3 ± 21,8	187,4 ± 31,4	163,8 ± 17,6	198,3 ± 24,2
Colesterolemia (mg/dL)	79,89 ± 11,77	77,38 ± 11,63	92,40 ± 11,72	113,2 ± 9,20

Fonte: Próprio autor.

Legenda: NCTA: Controle Não Treinamento Aeróbio; CTA: Controle Treinamento Aeróbio; NOTA: Obeso Não Treinamento Aeróbio; e OTA: Obeso Treinamento Aeróbio. A ausência de símbolos indica que não houve diferença estatísticas entre os grupos para os parâmetros citados na tabela 4.

6.5 Análise histológica

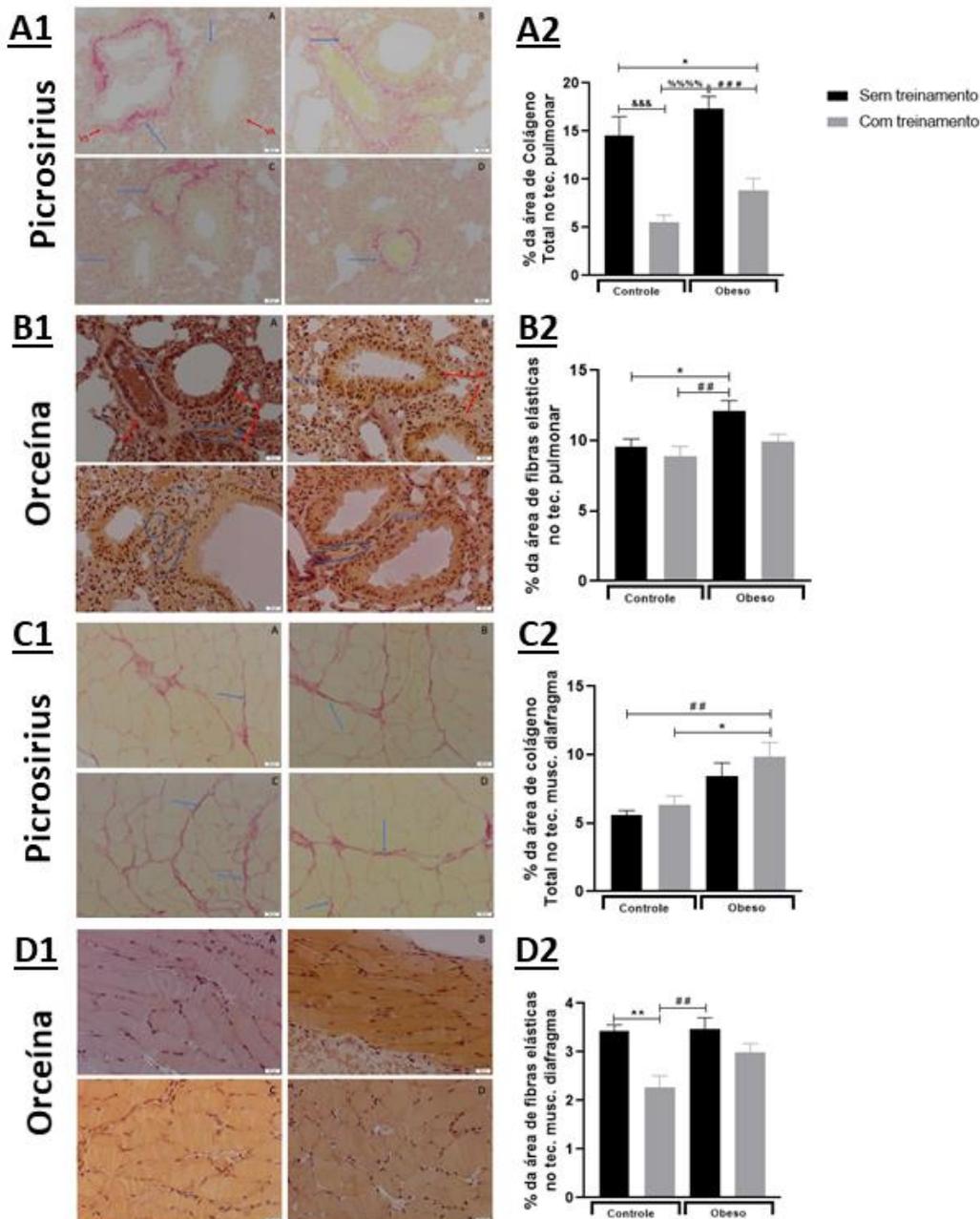
A seguir a Figura 10 mostra os cortes histológicos do tecido pulmonar e do tecido do diafragma da prole do estudo correlacionado com seus valores obtidos e expostos nos gráficos. As setas e/ou círculos azuis ou vermelhos apontam para as fibras elásticas e fibras colágenas nas regiões de interesse neste estudo. Nas fotomicrografias, as lâminas coradas com picrossirius (cor avermelhada, pink) estão marcando as fibras colágenas e as lâminas coradas com orceína (cor marrom) estão marcando as fibras elásticas, nas vias aéreas (VA) ou nos vasos sanguíneos (VS) do tecido pulmonar; ou no perimísio ou vasos sanguíneos do tecido do diafragma.

Os valores encontrados na análise estatística da histologia de fibras colágenas totais no tecido pulmonar estão na Figura A2. O grupo NCTA apresentou média de $14,50 \pm 2,00$; no grupo CTA foi igual a $5,95 \pm 0,69$; no grupo NOTA foi igual $17,30 \pm 1,30$; e no grupo OTA foi igual a $8,82 \pm 1,27\%$. Na sequência, estão os valores encontrados na análise estatísticas das fibras elásticas no tecido pulmonar, demonstrados na Figura B2. Neste caso, o grupo NCTA obteve valor de $9,54 \pm 0,56$; no grupo CTA foi igual a $8,90 \pm 0,67$; no grupo NOTA foi igual $12,09 \pm 0,76$; e o grupo OTA obteve valor de $9,96 \pm 0,48\%$.

Na Figura C2 estão os resultados encontrados na análise estatísticas da histologia de fibras colágenas totais no tecido muscular do diafragma nos diferentes grupos. O grupo NCTA apresentou valor igual a $5,56 \pm 0,33$; no grupo CTA foi igual a $6,30 \pm 0,67$; no grupo NOTA foi igual $8,43 \pm 0,96$; e no grupo OTA o valor foi de $9,86 \pm 1,03\%$. E por fim, na Figura D2 encontram-se os valores da análise estatísticas de fibras elásticas no tecido muscular do diafragma nos diferentes grupos (ver Figura D2). O

grupo NCTA valor igual a $3,42 \pm 0,13$; no grupo CTA foi igual a $2,27 \pm 0,23$; no grupo NOTA foi igual $3,46 \pm 0,23$; e no grupo OTA foi igual a $2,98 \pm 0,18\%$.

Figura 10 - Cortes histológicos com espessura de 5µm corados com picrosirius ou orceína correlacionado com seus respectivos resultados da análise estatística.



Fonte: próprio autor.

Legenda: (A) NCTA; (B) CTA; (C) NOTA; (D) OTA.

Setas ou círculos azuis indicam deposição de fibras colágeno ou fibras elásticas adjacente às membranas das vias aéreas (VA) e/ou vasos sanguíneos (VS) no tecido pulmonar, ou em torno do perímio (membrana intermediária do músculo) do diafragma. Setas vermelhas apontam para as vias aéreas (VA) e/ou vasos sanguíneos (VS). **A2**: Valores de fibras colágenas totais no tecido pulmonar nos grupos do estudo. Os valores estão apresentados como média e EPM. Legenda: NCTA: Controle Não Treinamento Aeróbio; CTA: Controle Treinamento Aeróbio;

NOTA: Obeso Não Treinamento Aeróbio; e OTA: Obeso Treinamento Aeróbio. O * indica diferença estatística entre o grupo NCTA vs OTA, cujo $p = 0,042$; o &&& indica diferença estatística entre NCTA vs CTA; cujo $p = 0,0005$; o ### indica diferença estatística entre NOTA vs OTA, cujo $p = 0,0009$; e o %%% indica diferença estatística entre o CTA e NOTA, cujo $p < 0,0001$. **B2**: Valores de fibras elásticas no tecido pulmonar nos grupos do estudo. Os valores estão apresentados como média e EPM. Legenda: NCTA: Controle Não Treinamento Aeróbio; CTA: Controle Treinamento Aeróbio; NOTA: Obeso Não Treinamento Aeróbio; e OTA: Obeso Treinamento Aeróbio. O * indica diferença estatística entre o grupo NCTA vs NOTA, cujo $p = 0,044$; e o ** indica diferença estatística entre CTA vs NOTA, cujo $p = 0,0069$. **C2**: Valores de fibras colágenas totais no tecido muscular do diafragma nos grupos do estudo. Os valores estão apresentados como média e EPM. Legenda: NCTA: Controle Não Treinamento Aeróbio; CTA: Controle Treinamento Aeróbio; NOTA: Obeso Não Treinamento Aeróbio; e OTA: Obeso Treinamento Aeróbio. O * indica diferença estatística entre o grupo CTA vs OTA, cujo $p = 0,021$; e o ** indica diferença estatística entre NCTA vs OTA, $0,003$. **D2**: Valores de fibras elásticas no tecido muscular do diafragma nos grupos do estudo. Os valores estão apresentados como média e EPM. Legenda: NCTA: Controle Não Treinamento Aeróbio; CTA: Controle Treinamento Aeróbio; NOTA: Obeso Não Treinamento Aeróbio; e OTA: Obeso Treinamento Aeróbio. O ** indica diferença estatística entre o grupo NCTA vs CTA, cujo $p = 0,0017$; e o # indica diferença estatística entre CTA vs NOTA, cujo $p = 0,0011$. ANOVA One-Way, seguido de *Post test* de Bonferroni.

7 DISCUSSÃO

Os resultados do nosso estudo são interessantes e permitiram evidenciar questões importantes e intrigantes acerca da temática do estudo.

No resultado da massa corpórea das fêmeas matrizes não foram observadas alterações quando comparados os grupos sem e com treinamento físico aeróbico. Apesar disso, é importante ressaltar que o treinamento físico aeróbico pode sim influenciar na manutenção do peso corporal ideal e na composição corporal do indivíduo. Em uma pesquisa sobre a aderência na prática de exercício físico por universitários avaliando os fatores motivacionais relacionados a essa aderência, Guedes, Legnani e Legnani (2012) descreveram que o exercício físico pode favorecer na eficiência do metabolismo dos nutrientes e no gasto energético do indivíduo, impactando diretamente no balanço energético do organismo.

Em nosso estudo, as matrizes realizaram previamente ao treinamento, o teste de esforço máximo adaptado de Ferreira *et al.* (2007) e Felipe e Felício (2016), buscando identificar a capacidade máxima de cada animal para posterior determinação e manipulação da intensidade de exercício durante o período do treinamento físico aeróbico. Nos nossos resultados o exercício físico influenciou, por programação fetal e possíveis mecanismos epigenéticos, parâmetros respiratórios, bioquímicos e histológicos na prole. Uma pesquisa objetivando entender os desfechos de diferentes protocolos de treinamento físico, também embasado no trabalho de Ferreira *et al.* (2007), realizou um teste de esforço máximo em camundongos C57BL/6 para determinação de qual a intensidade de exercício físico em que os animais iriam treinar. Nesta pesquisa, Bruno determinou as intensidades do treinamento físico variando entre 60 e 75% do resultado encontrado no teste. Ao final, foi percebido que as diferentes intensidades de exercício impactaram os parâmetros metabólicos e níveis de citocinas nos tecidos musculares e no soro e na histologia dos músculos avaliados. (PEREIRA, 2015). Também mostrando-se semelhante, o estudo de Silva Filho (2019) avaliou o impacto de intensidade alta e intensidade moderada de exercício físico sobre um tumor e perfil bioquímico. Neste estudo, camundongos swiss também realizaram um teste de esforço máximo em esteira para determinação da intensidade alta e intensidade moderada respectivamente à 80% e 60% do resultado obtido no teste. O estudo encontrou influências do exercício físico nos níveis sanguíneos de glicose e no tamanho da massa tumoral.

Sobre a análise da quantidade de filhotes obtidos pelas matrizes é possível observar que não houve diferenças estatísticas entre o grupo treinado e não treinado. E isso nos permite dizer que o treinamento físico aeróbico não influenciou de forma negativa na gestação e no nascimento da prole. Importante realçar que as matrizes iniciaram o protocolo de exercício físico aeróbico antes do início da gestação, e ao longo do período gestacional a intensidade do treinamento físico foi manipulada (regredida) para evitar surgimento de qualquer consequência indesejada na matriz e na prole, no parto ou posteriormente. Há tempos que o exercício físico deixou de ser contraindicado pelo seu possível potencial prejudicial à mãe e à prole, e atualmente não se questiona sobre a existência de efeitos prejudiciais do exercício físico, pois os benefícios são evidentes. A Organização Mundial da Saúde (OMS) reforça a redução do risco de diabetes gestacional, pré-eclâmpsia, ganho de peso excessivo, hipertensão arterial, menores complicações no recém-nascido, complicações no parto e depressão pós-parto, risco de natimortalidade e efeitos adversos do peso ao nascer são considerados efeitos benéficos da atividade física praticada regularmente pelas mulheres durante a gestação e no pós-parto (OMS, 2020). Alguns pesquisadores relatam que demais diretrizes aconselham a prática de atividade física ao longo de toda a gravidez, restringindo apenas atividades com risco iminente à mãe e feto. Os mecanismos protetores e benéficos do exercício na gestação norteiam-se mais diretamente pela amenização da incidência de problemas de saúde como a hipertensão arterial, diabetes gestacional, entre outros (MATIJASEVICH; DOMINGUES, 2010). Por esses motivos, fica entendido que o treinamento físico aeróbico não prejudicou a gestação e nem a quantidade de filhotes paridos pelas matrizes neste estudo. No entanto, estudos mais detalhados podem ser feitos sobre esse tema para evidenciar a viabilidade pós-gestacional e da prole na vida adulta, entre outros.

O protocolo de indução da obesidade na prole deste estudo, através do ajuste na quantidade de filhotes por ninhada, foi efetivamente aplicado e gerou as consequências esperadas e necessárias para o prosseguimento da pesquisa. Assim, as ninhadas que continham menor quantidade de filhotes por mãe (ou seja, ninhadas reduzidas) apresentaram maiores valores de massa corpórea quando comparadas às ninhadas normais (ou seja, com quantidades maiores de filhotes por mãe). No trabalho de Teixeira *et al.* (2016) que investigou consequências no sistema respiratório de prole de camundongos induzidos à obesidade após administração do fármaco salbutamol, os autores realizaram a manipulação da prole formando ninhadas reduzidas com 3 (três)

filhotes machos por mãe e ninhadas normais com 12 (doze) filhotes machos por mãe. Da mesma forma foi feito no estudo de Dias *et al.* (2018). Com isso, em ambos os estudos foi visto que os grupos obesos apresentaram peso corporal significativamente maior comparado ao grupo controle, comprovando a efetividade deste protocolo. No nosso estudo, os dados obtidos acerca do protocolo de redução de ninhada para induzir a obesidade na prole corroboram os resultados obtidos nos estudos prévios supracitados. Além disso, outros autores, de diferentes laboratórios, também obtiveram sucesso na execução deste protocolo, como por exemplo Ferreira Junior (2019) que utilizou ratos Wistar e separou dois grupos de ninhada: reduzida e a padrão, com respectivamente 3 (três) e 9 (nove) filhotes machos por mãe, obtendo ao longo dos 21 dias pós-natal maior massa corporal no grupo de ninhada reduzida em relação ao grupo de ninhada normal. No trabalho de Sampaio (2020) também foram realizadas manipulações nas ninhadas, formando 1 (um) grupo controle ($n = 8$ filhotes) e 1 (um) grupo supernutrição ($n = 4$ filhotes). Foram alcançadas diferenças significativas entre os grupos, principalmente nas medições aos 21 e 31 dias pós-natal. Com isso, mais uma vez, confirma-se a efetividade do protocolo de redução de ninhada para a indução da obesidade na prole. Rodgers e Sferruzzi-Perri (2021) incitam para que sejam feitas investigações relacionando o efeito do exercício físico sobre dietas obesogênicas na prole merece ser investigada, sendo isso uma das hipóteses para trabalhos futuros.

Na avaliação da mecânica respiratória foram analisados os parâmetros de resistência total (R_{tot}), complacência (C), elastância (E), resistência das vias aéreas (Raw), resistência tecidual (G_{tis}) e elastância do tecido pulmonar (H_{tis}), sob condições basais, após a administração da salina e da metacolina (MCh) intraperitoneal (i.p.). Vale pontuar que em trabalhos realizados anteriormente em nosso laboratório, a administração de MCh (um agonista de receptor muscarínico colinérgico) foi realizada através do método de aerolização, conseguindo assim mimetizar com efetividade a ação do neurotransmissor acetilcolina (SANTOS *et al.*, 2014; TEIXEIRA *et al.*, 2016; DIAS *et al.*, 2018; LOURENÇO *et al.*, 2020; LOPES *et al.*, 2021). Neste atual estudo, modificamos o método de aplicação e administramos a MCh intraperitonealmente. Ou seja, aplicamos a MCh em uma via distinta daquela utilizada nos últimos trabalhos do nosso laboratório. Contudo, mesmo administrando a MCh via i.p. conseguimos observar seus efeitos, dessa forma mimetizando também a ação do neurotransmissor acetilcolina nos indivíduos selecionados. Ressaltamos que outros estudos também administraram a MCh via i.p. Na pesquisa desenvolvida por Al-Izki *et al.* (2009) objetivou-se investigar

o uso de drogas para o tratamento de disfunção da bexiga em modelo animal experimental de esclerose múltipla, e um dos desfechos identificados foi que a droga cloreto de betanecol (um agente agonista de receptor muscarínico colinérgico) promoveu efeitos iguais ao do neurotransmissor acetilcolina promovendo a contração do músculo detrusor da bexiga.

No parâmetro R_{tot} , foi possível observar que as proles dos grupos CTA e NOTA apresentaram valores significativamente maiores que os grupos NCTA e OTA. Porém, não foram encontradas diferenças significativas nas demais comparações entre grupos. No parâmetro R_{aw} , foi observado diferenças significativas entre os grupos, de modo que os grupos CTA e NOTA apresentaram valores maiores que os do grupo OTA. Contudo, não foram encontradas mais diferenças significativas em outras comparações. Tais resultados podem indicar que a atividade física nas mães durante a gestação afeta a mecânica respiratória da prole. Assim, deduzimos que o exercício físico feito pela mãe pode influenciar a mecânica respiratória da prole causando esse aumento da R_{tot} e da R_{aw} . Bossé (2012) explica que a musculatura lisa que circunda as vias aéreas se contrai e gera um estreitamento do lúmen das vias aéreas. Bossé ainda reforça que a metacolina é bem disseminada nos exames laboratoriais de desafio broncoconstritor para avaliação da responsividade das vias aéreas. Ele também salienta que vários fatores ambientais podem induzir a um aumento na força e contratilidade do músculo liso das vias aéreas como por exemplo alérgenos, fungos, vírus e poluentes. A desregulação do componente autonômico parassimpático, enquadrada como mecanismo secundário da BIE, é uma possível causa da alteração na mecânica respiratória da prole (BONINI; SILVERS, 2018), uma vez que o treinamento físico aeróbico estimula o aumento da modulação parassimpática (HAUTALA; KIVINIEMI; TULPPO, 2009), impactando na atividade do nervo vago e consequentemente na atividade da musculatura lisa das vias aéreas (BEZERRA, 2004). Na qual, tal desregulação pode desencadear exacerbadas contrações da musculatura lisa das vias aéreas gerando uma broncoconstrição com magnitude, duração e intervalos variados. Hipotetizamos então que por meio da programação fetal e epigenética, o exercício físico nas mães pode ter causado alterações nas mães e essas mudanças terem sido herdadas pela prole. Já sobre a obesidade, Kant *et al.* (2015) relata que a obesidade influencia a mecânica respiratória pois ocorre aumento da pressão abdominal, diminuição das propriedades de recuo e estreitamento das vias aéreas devido ao aumento da compressão do sistema respiratório causado pelo

excesso de gordura corporal. A atividade física é a maior e efetiva maneira de cuidado com a saúde de todos os sistemas e de prevenção de doenças. Clara evidência é observada da função pulmonar, bem como na redução da inflamação das vias aéreas e na responsividade (LATIMER-CHEUNG *et al.*, 2013). No entanto, vigorosos treinos podem sobrecarregar o sistema respiratório e expor o indivíduo a condições como a inalação de partículas poluentes, alérgenos e irritantes, desidratação e alteração da temperatura das vias aéreas. Tais condições podem influenciar negativamente o sistema imunológico e aumentar o risco de infecções do sistema respiratório (GIACCO; GARCIA-LARSEN, 2016). O aumento da osmolaridade (devido à desidratação) das vias aéreas e a vasodilatação (devido aumento da temperatura) são as condições fisiológicas que podem ser determinantes para desencadear a resposta imunológica e são consideradas, atualmente, duas hipóteses que dão suporte para a explicação da BIE (ANDERSON; DAVISKAS, 2000; MCFADDEN, 1990). Além do que se podem ter outras condições como agentes virais que infectam as vias aéreas nas condições acima citadas e a desregulação do sistema autonômico (BONINI *et al.*, 2013; BONINI; SILVERS, 2018). No presente estudo foi observado que a intensidade da atividade física aeróbica pode ter induzido a BIE nas mães dos filhotes avaliados e esta indução causou alterações epigenéticas nos filhotes que passaram a manifestar o fenótipo da BIE sem ter praticado atividade física intensa. Acredita-se que fatores infamatórios tenham causado este estímulo no material genético das fêmeas. No parâmetro Gtis (resistência tecidual), também foi encontrada diferenças significativas entre os valores, onde o grupo CTA teve maiores valores que o grupo NOTA; porém, não foram achadas mais diferenças significantes nas comparações entre os demais grupos. Nos demais parâmetros, ou seja, C, E, Htis não foram encontradas nenhuma diferença significativa nas comparações entre os grupos do estudo. Apesar de não termos encontrado diferenças estatísticas no parâmetro Htis, mas como foi identificado valor de Gtis significativamente maior no grupo CTA comparado aos demais grupos, hipotetizamos que possa ter acontecido um desequilíbrio na razão Gtis/Htis nos animais deste grupo e estes podem ter sofrido colapsos em seus pulmões relacionando-se também com alterações na rede de fibras colágeno-elastina, condições essas que influenciam na perda de energia acumulada durante os movimentos respiratórios, assim como visto por Santos *et al.* (2014) e Teixeira *et al.* (2016).

Na avaliação do perfil bioquímico da prole foram encontrados resultados interessantes. No parâmetro da calcemia, foram observadas diferenças significativas

nas comparações entre os grupos, de modo que os grupos OTA e NOTA apresentaram valores maiores que os grupos CTA e NCTA. Não tendo diferenças significativas entre as demais comparações. Já no parâmetro da glicemia, as diferenças significativas encontradas mostram que os grupos OTA, NOTA e CTA tiveram valores médios mais altos que no grupo NCTA. Com isso, nossos resultados corroboram os resultados de Lopes (2019) apenas quando comparados os grupos obesos sedentários de ambos os grupos. Em outra via, no parâmetro da colesterolemia total não foi identificadas diferenças estatísticas entre os grupos, assemelhando-se ao ocorrido no estudo de Ferreira Junior (2019). Na trigliceridemia também não foram observadas diferenças significativas entre os grupos do estudo.

As fibras de colágeno e as fibras elásticas fornecem tensão e elasticidade. Assim, relacionam-se às propriedades mecânicas influenciando assim na transferência do movimento e das forças (DIAS; ZIN; ROCCO, 2002). Na avaliação das fibras colágenas totais no tecido pulmonar os agrupamentos sedentários (i.e., grupos NCTA e NOTA) apresentaram maiores percentuais de deposição de fibras colágenas em torno das vias aéreas e vasos sanguíneos. Já o maior percentual de fibras elásticas foi visto no grupo obeso sedentário (i.e., NOTA). Interessantemente, no tecido muscular do diafragma, os grupos obesos (ou seja, grupos NOTA e OTA), se mostraram com maiores percentuais de deposição tecidual de fibras colágenas totais. Na avaliação das fibras elásticas no diafragma, os grupos sedentários (grupos NCTA e NOTA) se mostraram com maiores percentuais de deposição dessas fibras quando comparados aos demais grupos do estudo. Nesse sentido, os resultados dos nossos estudos mostram que o treinamento físico aeróbico pode não ter influenciado ou pode ter promovido redução da expressão tecidual pulmonar e muscular de fibras colágenas e elásticas. Já a obesidade e o sedentarismo, coexistentes ou não, parecem ter impactado causando aumento na deposição dessas fibras sobre os tecidos avaliados neste estudo. Brianezi *et al.* (2019) estudaram a influência do exercício físico aeróbico e ovariectomia em camundongos fêmeas C57BL/6 e outras nocaute para receptor de lipoproteína de baixa densidade (LDL KO), e identificaram que o exercício físico também não causou impactos significantes na expressão de fibras colágenas tipo I e tipo III na camada íntima da artéria aorta. Em outra via, uma desnutrição acometida em neonatos pode prejudicar significativamente a função pulmonar. Uma redução de 40% da massa corpórea associa-se à diminuição do potencial de recolhimento elástico e a uma elevação da complacência. Além disso, a desnutrição também pode interferir no

crescimento pulmonar, obtendo redução no tamanho dos pulmões e no total do tecido conjuntivo contido (DIAS; ZIN; ROCCO, 2002). Ao contrário disso, no nosso estudo ocorreu uma supernutrição ou nutrição normal à prole neonatal. De modo que a prole super nutrida apresentou maiores expressão de tecido conjuntivo, ou seja, fibras de colágeno e fibras elásticas tanto nos pulmões quanto no diafragma. Esse desfecho pode auxiliar no entendimento de que a nutrição do neonato influencia fortemente na formação dos componentes do sistema respiratório, de modo que uma alimentação adequada seja essencial para o ideal crescimento e desenvolvimento dos componentes do aparelho respiratório.

Acerca do efeito do treinamento físico, no nosso estudo, o treinamento parece ter influenciado na diminuição das fibras de colágeno total no tecido pulmonar dos grupos submetidos ao treinamento aeróbico (i.e., CTA e OTA) quando comparado aos demais grupos do estudo (NCTA e NOTA). O treinamento aeróbico também auxiliou a redução das fibras de colágeno no diafragma do grupo CTA quando comparado aos grupos obesos (i.e., NOTA e OTA), e levemente aumentado comparado ao grupo sedentário, mas sem significância. Esses resultados assemelham-se aos dados encontrados por Tampelini (2007), que investigou o efeito do exercício físico aeróbico sobre as fibras colágenas tipo I, III e elásticas na artéria aorta. A pesquisa evidenciou que o treinamento físico promoveu redução das fibras de colágeno I e III promovendo melhorias nas funções mecânicas dos vasos de animais submetidos ao exercício quando comparado aos animais não exercitados. Dessa forma, ao relevar o comportamento do colágeno, podemos inferir que neste estudo o protocolo de treinamento físico aeróbico foi benéfico aos grupos treinados, reduzindo a expressão de fibras colágenas e implicando assim em melhorias das propriedades mecânicas do tecido pulmonar e tecido do diafragma.

Já olhando para as fibras elásticas no tecido pulmonar, o treinamento físico aeróbico promoveu leve redução na expressão dessas fibras quando comparado aos grupos sedentário e obeso treinado (i.e., NCTA e OTA); e uma redução significativa quando comparado ao grupo sedentário obeso (i.e., NOTA). E no diafragma, o exercício físico promoveu significante redução no percentual de fibras elásticas ao se comparar com os grupos sedentários (i.e., NCTA e NOTA), e leve diminuição sem diferenças estatísticas quando comparado ao grupo obeso treinado (i.e., OTA). Esses resultados que nós encontramos trilham em sentido oposto ao que foi visto por Tampelini (2007). Ele identificou que o exercício aeróbico promoveu maior expressão de fibras elásticas

no tecido da artéria aorta, melhorando a função mecânica desse vaso sanguíneo. Assim, deduzimos que o exercício físico parece não ter impactado sobre as fibras elásticas. Contudo, como apresentado por Tampelini o exercício físico pode sim influenciar positivamente na expressão de fibras elásticas, impactando no aumento da deposição destas sobre os tecidos e favorecendo para melhoria das propriedades mecânicas dos órgãos.

Essas alterações encontradas no nosso estudo permitem realçar as consequências do exercício físico aeróbico realizado pelas mães antes e durante a gestação na prole, seguindo a linha da epigenética. Essas consequências seguem devido a modificações ocorridas no genoma da matriz (LEANDRO *et al.*, 2009). Isso nos permite inferir que o treinamento físico aeróbico realizado pelas matrizes do nosso estudo pode ter desencadeado algum processo como a metilação do DNA ou metilação e/ou acetilação de histonas no genoma das matrizes, promovendo as alterações encontradas nos parâmetros avaliados no nosso estudo. Leandro e colaboradores reforçaram que fatores ambientais podem transferir consequências à prole por programação, exemplificado por um estudo que identificou que ratas que sofreram aplicação aguda de testosterona durante fase crucial da gestação mostrou que a prole apresentou comportamento masculino em estágio semelhante à puberdade, mesmo sem modificar a função dos ovários e glândula pituitária.

8 CONCLUSÕES

Em nossos estudos, realizamos com êxito os protocolos propostos previamente, permitindo assim completar toda a investigação determinada para este projeto. E os resultados obtidos destes protocolos, nos permitem concluir que:

- a) a supernutrição pós-natal de camundongos fêmeas resultou em aumento da massa corpórea e essa não foi atenuada na prole advinda de mães treinadas;
- b) o exercício físico pode influenciar no sistema respiratório (resistências totais e de vias aéreas), perfil bioquímico e histologia dos pulmões e diafragma por meio de alterações epigenéticas geradas na prole advinda de mães treinadas. De modo que a magnitude e a direção dos efeitos epigenéticos do exercício vão ser dependentes da forma com que a matriz/mãe executou o protocolo de treinamento físico, podendo gerar efeitos benéficos ou maléficos;
- c) os efeitos epigenéticos treinamento físico causados nas mães e herdados pela prole auxiliaram amenizar algumas consequências negativas oriundas da obesidade sobre a mecânica respiratória e da histologia do pulmão e diafragma.

Dessa forma, consideramos importantes os resultados obtidos neste estudo, haja vista ser um tema relevante e atualmente em crescente investigação. Mas estudos adicionais devem ser executados para melhor esclarecer os mecanismos intrínsecos dos efeitos causados pelo exercício físico e pela obesidade, com ênfase na programação fetal e epigenética.

REFERÊNCIAS

- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA PARA O ESTUDO DA OBESIDADE E SÍNDROME METABÓLICA. **Mapa da obesidade**. São Paulo, 2022. Disponível em: <https://abeso.org.br/obesidade-e-sindrome-metabolica/mapa-da-obesidade/>. Acesso em: 29 abr. 2022.
- AGGARWAL, B.; MULGIRIGAMA, A.; BEREND, N. Exercise-induced bronchoconstriction: prevalence, pathophysiology, patient impact, diagnosis and management. **npj Prim Care Resp Med**, v. 28, n. 31, 2018. <https://doi.org/10.1038/s41533-018-0098-2>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41533-018-0098-2>. Acesso em: 29 abr. 2022.
- AIRES, M. M. **Fisiologia**. 5. ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2019. 1376 p.
- AL-IZKI, S. *et al.* Evaluating potential therapies for bladder dysfunction in a mouse model of multiple sclerosis with high-resolution ultrasonography. **Multiple Sclerosis Journal**, v. 15, n. 7, p. 795-801, 22 May 2009. <http://dx.doi.org/10.1177/1352458509104594>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19465448/>. Acesso em: 10 fev. 2022.
- ANDERSON, S. D.; DAVISKAS, E. The mechanism of exercise-induced asthma is **Journal Of Allergy and Clinical Immunology**, v. 106, n. 3, p. 453-459, Sept. 2000. <http://dx.doi.org/10.1067/mai.2000.109822>. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0091674900847855?casa_token=VrI0vTBw3fgAAAAA:mKL2wGGMD0ofwF0L0yFI0jxmKY5kcKAXedi7A0627sTBG31NBwPY8pRRFsvjAzw_Nn6Fd1dub3tJ. Acesso em: 29 abr. 2022.
- AQUINO-JUNIOR, J. C. J. *et al.* Aerobic exercise inhibits obesity-induced respiratory phenotype. **Cytokine**, v. 104, n. 1, p.46-52, Apr. 2018. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cyto.2017.12.025>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1043466617303964>. Acesso em: 31 jan. 2020.
- ARIMA, Y. *et al.* Developmental origins of health and disease theory in cardiology. **Journal Of Cardiology**, v. 76, n. 1, p. 14-17, July. 2020. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jjcc.2020.02.003>. Disponível em: [https://www.journal-of-cardiology.com/article/S0914-5087\(20\)30047-2/fulltext](https://www.journal-of-cardiology.com/article/S0914-5087(20)30047-2/fulltext). Acesso em: 29 abr. 2022.
- BARKER, D. J. The fetal and infant origins of adult disease. **Bmj**, v. 301, n. 6761, 1 p., 17 nov. 1990. <http://dx.doi.org/10.1136/bmj.301.6761.1111>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1664286/>. Acesso em: 23 jun. 2022.
- BATES, J. H. *et al.* Measurement of alveolar pressure in closed-chest dogs during flow interruption. **Journal Of Applied Physiology**, v. 67, n. 1, p. 488-492, 1 July. 1989. American Physiological Society. <http://dx.doi.org/10.1152/jappl.1989.67.1.488>. Disponível em: <https://journals.physiology.org/doi/abs/10.1152/jappl.1989.67.1.488>. Acesso em: 29 abr. 2022.

BATES, J. H. T. *et al.* The Estimation of Lung Mechanics Parameters in the Presence of Pathology: a theoretical analysis. **Annals Of Biomedical Engineering**, v. 34, n. 3, p. 384-392, 9 Feb. 2006. <http://dx.doi.org/10.1007/s10439-005-9056-6>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10439-005-9056-6>. Acesso em: 29 abr. 2022.

BEZERRA, M. A. C. **Estudo farmacológico do óleo essencial dealpinia zerumbet(pers) b. L. Burt et r. M. E seus principais constituintes químicos, 4-terpineol e 1,8-cineol, em músculo liso respiratório de rato.** 2004. 237 f. Tese (Doutorado em Farmacologia), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2004. Disponível em: <https://repositorio.ufc.br/handle/riufc/64843>. Acesso em: 29 abr. 2022.

BORTOLINI, G. A. *et al.* Guias alimentares: estratégia para redução do consumo de alimentos ultra processados e prevenção da obesidade. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 43, n. 59, p. 1-6, 16 dez. 2019. <http://dx.doi.org/10.26633/rpsp.2019.59>. Disponível em: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/51333>. Acesso em: 29 abr. 2022.

BONINI, M.; SILVERS, W. Exercise-Induced Bronchoconstriction. **Immunology And Allergy Clinics Of North America**, v. 38, n. 2, p. 205-214, May 2018. <http://dx.doi.org/10.1016/j.iac.2018.01.007>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29631730/>. Acesso em: 25 out. 2021.

BOSSÉ, Y. Asthmatic airway hyperresponsiveness: the ants in the tree. **Trends In Molecular Medicine**, v. 18, n. 11, p. 627-633, Nov. 2012. <http://dx.doi.org/10.1016/j.molmed.2012.09.002>. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1471491412001761?casa_token=idO6xYmkb7QAAAAA:faZyqpnv0corZanalP5LVHYX2NypvpK3AS6TNsds4rem5CLa-Xhp5-aSgUZLX79tiD-VOaGLcg#fig0010. Acesso em: 25 out. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Vigitel Brasil 2018: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico: estimativas sobre frequência e distribuição sociodemográfica de fatores de risco e proteção para doenças crônicas nas capitais dos 26 estados brasileiros e no Distrito Federal em 2018.** Brasília, 2019. 132 p. Disponível em: [www.http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/vigitel_brasil_2018_vigilancia_fatores_risco.pdf](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/vigitel_brasil_2018_vigilancia_fatores_risco.pdf). Acesso em: 26 de jan. 2020.

BRIANEZI, L. *et al.* Efeitos do Treinamento Físico sobre o Miocárdio de Camundongos LDLr Knockout Ovariectomizadas: mmp-2 e -9, colágeno i/iii, inflamação e estresse oxidativo. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, p. 1-6, jan. 2019. <http://dx.doi.org/10.5935/abc.20190223>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/ahhttps://www.scielo.br/j/abc/a/L8DjNBnhkDhBzTmsGLhnP7R/?format=pdf&lang=pthttps://www.scielo.br/j/abc/a/L8DjNBnhkDhBzTmsGLhnP7R/abstract/?lang=ptbc/a/L8DjNBnhkDhBzTmsGLhnP7R/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 29 abr. 2022.

BROWN, C. L. *et al.* Addressing Childhood Obesity. **Pediatric Clinics Of North America**, v. 62, n. 5, p. 1241-1261, Oct. 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pcl.2015.05.013>. Disponível em: [https://www.pediatric.theclinics.com/article/S0031-3955\(15\)00085-1/fulltext](https://www.pediatric.theclinics.com/article/S0031-3955(15)00085-1/fulltext). Acesso em: 29 abr. 2022.

CHEN, B. *et al.* Tidal breathing pattern differentially antagonizes bronchoconstriction in C57BL/6J vs. A/J mice. **Journal Of Applied Physiology**, v. 101, n. 1, p. 249-255, July. 2006. American Physiological Society.
<http://dx.doi.org/10.1152/jappphysiol.01010.2004>. Disponível em:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16484363/>. Acesso em: 29 apr. 2022.

COSTA, L. N. C. **Programação fetal por obesidade hipotalâmica e periodontite promove hipotrofia no músculo tibial anterior de ratos wistar**. 2021. 84 f. Dissertação (Mestrado em Biociências e Saúde), Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavél, 2021. Disponível em:
https://tede.unioeste.br/bitstream/tede/5688/5/Liziane_Costa2021.pdf. Acesso em: 30 jun. 2022.

DANGELO, J. G.; FATTINI, C. A. **Anatomia humana: sistêmica e segmentar**. 3. ed. São Paulo: Atheneu, 2011. 757 p.

DIAS, C. M.; ZIN, W. A.; ROCCO, P. R. M. Efeitos da desnutrição protéico-calórica sobre a função pulmonar. **Pulmão**, v. 8, n. 4, p. 1-8, Jan. 2000. Disponível em:
http://www.sopterj.com.br/wp-content/themes/_sopterj_redesign_2017/_revista/2002/n_04/efeitos-da-desnutricao-proteico-calorica-sobre-a-funcao-pulmonar.pdf. Acesso em: 29 abr. 2022.

DIAS, M. D. *et al.* Metformin influences on respiratory system in obese mice induced by postnatal overnutrition. **Respiratory Physiology & Neurobiology**, v. 247, p. 96-102, Jan. 2018. <http://dx.doi.org/10.1016/j.resp.2017.09.010>. Disponível em:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1569904817302124>. Acesso em: 29 abr. 2022.

DIXON, A. E.; PETERS, U. The effect of obesity on lung function. **Expert Review Of Respiratory Medicine**, v. 12, n. 9, p. 755-767, 14 Aug. 2018.
<http://dx.doi.org/10.1080/17476348.2018.1506331>. Disponível em:
<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/17476348.2018.1506331>. Acesso em: 29 abr. 2022.

FELIPE, D. S.; FELÍCIO, E. D. **Análise do impacto de diferentes intensidades de exercício sobre a aterosclerose em camundongos**. 2018. 13 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Educação Física), Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais - Campus Muzambinho, Muzambinho, 2016. Disponível em:
<https://muz.ifsuldeminas.edu.br/attachments/4453_ANALISE_DO_IMPACTO_DE_DIFERENTES_INTENSIDADES_DE_EXERCICIO_FÍSICO_SOBRE_A_ATEROSCLEROSE_EM_CAMUNDONGOS.PDF>. Acesso em: 30 dez. 2019.

FERREIRA, J. C. B. *et al.* Maximal lactate steady state in running mice: effect of exercise training. **Clin Exp Pharmacol Physiol**, v. 34, n. 8, p.760-765, Aug. 2007. DOI: 10.1111/j.1440-1681.2007.04635.x. Disponível em:
<<http://api.wiley.com/onlinelibrary/tldm/v1/articles/10.1111/j.1440-1681.2007.04635.x>>. Acesso em: 30 dez. 2019.

FERREIRA JUNIOR, M. D. **Alterações cardiovasculares induzidas por supernutrição durante a lactação em ratos wistar na idade adulta**. 2019. 57 f.

Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas), Universidade Federal de Goiás, Goiás, 2019. Disponível em: <https://repositorio.bc.ufg.br/tede/handle/tede/9539>. Acesso em: 29 abr. 2022.

GIACCO, S. R del; GARCIA-LARSEN, V. Aerobic exercise training reduces bronchial hyper-responsiveness and serum pro-inflammatory cytokines in patients with asthma. **Evidence Based Medicine**, v. 21, n. 2, p. 70-70, 21 Jan. 2016. <http://dx.doi.org/10.1136/ebmed-2015-110260>. Disponível em: https://ebm.bmj.com/content/21/2/70.short?casa_token=wRfR9_6zNggAAAAA:KPpRwOzNESsjsCtUU0aRyZKe9SEz7vOBM-GOq9H7PwSv0ARy2zxrCwL5LvCPstCyXBMoZb5Y0d4. Acesso em: 29 abr. 2022.

GICQUEL, C. *et al.* Epigenetic regulation and fetal programming. **Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 22, n. 1, p. 1-16, Feb. 2008. <http://dx.doi.org/10.1016/j.beem.2007.07.009>. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1521690X07000644?casa_token=p8dK_mClomwAAAAA:iOI-Kd9igUw7c04o5666Ac-SVF_xtU9llmoEMjbS_WnjQ0oEMYquEpcn-6z6vnwKslBwSleGSLK0. Acesso em: 29 abr. 2022.

GUEDES, D. P.; LEGNANI, R. F. S.; LEGNANI, L. Motivos para a prática de exercício físico em universitários de acordo com o índice de massa corporal. **Revista Brasileira de Atividade Física & Saúde**, v. 17, n. 4, p. 270–274, 2013. DOI: 10.12820/rbafs.v.17n4p270-274. Disponível em: <https://rbafs.emnuvens.com.br/RBAFS/article/view/1876>. Acesso em: 29 abr. 2022.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de fisiologia médica**. 12. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011. 1946 p.

HANTOS, Z. *et al.* Input impedance and peripheral inhomogeneity of dog lungs. **Journal Of Applied Physiology**, v. 72, n. 1, p. 168-178, 1 Jan. 1992. American Physiological Society. <http://dx.doi.org/10.1152/jappl.1992.72.1.168>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1537711/>. Acesso em: 29 abr. 2022.

HAUTALA, A. J.; KIVINIEMI, A. M.; TULPPO, M. P. Individual responses to aerobic exercise: the role of the autonomic nervous system. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 33, n. 2, p. 107-115, Feb. 2009. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neubiorev.2008.04.009>. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0149763408000596?casa_token=ey6ypFeScfEAAAAA:OL1PuhFgkelYo2vLddgDBDi2Y-3RsljEaITP2JKbkzLZH1XKi7jFqdFfgXCuJvH3snWypNypA. Acesso em: 29 abr. 2022.

HEMMINGSSON, E. *et al.* Early Childhood Obesity Risk Factors: socioeconomic adversity, family dysfunction, offspring distress, and junk food self-medication. **Current Obesity Reports**, v. 7, n. 2, p. 204-209, 27 Apr. 2018. <http://dx.doi.org/10.1007/s13679-018-0310-2>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s13679-018-0310-2>. Acesso em: 29 abr. 2022.

IBGE. **Tabela 8167 - Pessoas de 15 a 17 anos de idade com excesso de peso ou obesidade, por sexo**. Rio de Janeiro, 2019. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/8167#resultado>. Acesso em: 23 jun. 2022.

INTERTECK INTERNACIONAL IMP. EMP. **Cálcio Arsenazo III**: instruções de uso - método colorimétrico. São Paulo, 2016, p. 2 p. Disponível em: <https://www.katal.com.br/downloads/reagente/8574dbd0-2019-4c29-a67f-d0cb9b55e6f1.pdf>. Acesso em: 25 out. 2021.

JORDÃO, M. R. Z. *et al.* Obesidade abdominal e o sistema respiratório. **Fisioterapia Brasil**, v. 19, n. 6, p.850-856, 1 Fev. 2019. <http://dx.doi.org/10.33233/fb.v19i6.1664>. Disponível em: <http://portalatlanticaeditora.com.br/index.php/fisioterapiabrasil/article/view/1664>. Acesso em: 12 jan. 2020.

JUNQUEIRA, L. C. U.; COSSERMELLI, W.; BRENTANI, R. Differential Staining of Collagens Type I, II and III by Sirius Red and Polarization Microscopy. **Archivum Histologicum Japonicum**, v. 41, n. 3, p. 267-274, 1978. <http://dx.doi.org/10.1679/aohc1950.41.267>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/82432/>. Acesso em: 29 abr. 2022.

KANT, K. D.G. *et al.* The effect of body weight on distal airway function and airway inflammation. **Obesity Research & Clinical Practice**, v. 10, n. 5, p. 564-573, Sept. 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.orcp.2015.10.005>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1871403X15001647?via%3Dihub>. Acesso em: 25 out. 2021.

KOCJAN, J. *et al.* Network of breathing. Multifunctional role of the diaphragm: a review. **Advances In Respiratory Medicine**, v. 85, n. 4, p. 224-233, 04 Aug. 2017. Disponível em: https://journals.viamedica.pl/advances_in_respiratory_medicine/article/view/ARM.2017.0037/41543. Acesso em: 29 abr. 2022.

KOYA, T. *et al.* Management of exercise-induced bronchoconstriction in athletes. **The Journal Of Allergy And Clinical Immunology: In Practice**, v. 8, n. 7, p. 2183-2192, July. 2020. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaip.2020.03.011>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S221321982030252X>. Acesso em: 29 abr. 2022.

LABTEST DIAGNÓSTICA. **Colesterol Liquiform**: instruções de uso. 76. ed. Lagoa Santa, 2014. 6 p. Disponível em: https://labtest.com.br/wp-content/uploads/2016/12/Ref_76_EdicMar%C3%A7o2000_RevSetembro2020_Ref091120_Port.pdf. Acesso em: 25 out. 2021.

LABTEST DIAGNÓSTICA. **Glicose Liquiform**: instruções de uso. 133. ed. Lagoa Santa, 2011. 6 p. Disponível em: https://labtest.com.br/wp-content/uploads/2016/09/Ref_133_Edi%C3%A7%C3%A3oDezembro2011_Revis%C3%A3oSetembro2020_Ref231020_Port.pdf. Acesso em: 25 out. 2021.

LABTEST DIAGNÓSTICA. **Triglicérides Liquiform**: instruções de uso. 87. ed. Lagoa Santa, 2019. 6 p. Disponível em: https://labtest.com.br/wp-content/uploads/2016/09/Ref_87_EdicMar%C3%A7o2000_RevAbril2019_Ref020320_Port.pdf. Acesso em: 25 out. 2021.

LATIMER-CHEUNG, A. E. *et al.* Effects of Exercise Training on Fitness, Mobility, Fatigue, and Health-Related Quality of Life Among Adults with Multiple Sclerosis: a

systematic review to inform guideline development. **Archives Of Physical Medicine and Rehabilitation**, v. 94, n. 9, p. 1-32, Sept. 2013.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.apmr.2013.04.020>. Disponível em:

https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003999313003614?casa_token=JCLSe8_OINAAAAA:YloGF2jL9CWoOkah5uN2Tx0sW71e3ISJsM9P4RRRuOf8Hzl-MZSe_LlyuWc4Bji1ouoAIGZhgg_2. Acesso em: 29 abr. 2022.

LEANDRO, C. G. *et al.* Pode a atividade física materna modular a programação fetal induzida pela nutrição? **Revista de Nutrição**, v. 22, n. 4, p.559-569, Ago. 2009.

<http://dx.doi.org/10.1590/s1415-52732009000400011>. Disponível em:

http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-52732009000400011. Acesso em: 12 jan. 2020.

LOPES, A. C. R. *et al.* Impact of obesity and ovariectomy on respiratory function in female mice. **Respiratory Physiology & Neurobiology**, v. 294, p. 1-7, Dec. 2021.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.resp.2021.103775>. Disponível em:

https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1569904821001609?casa_token=aHpX37kKY00AAAA:sXGht2rfkMbd56ERQvcmC3MoWIG3sjPW09m0M9j9KOZAhEwa97VRI_7z0gslljFrNvUzoujFg. Acesso em: 10 fev. 2022.

LOURENÇO, L. O. *et al.* Vagotomy influences the lung response to adrenergic agonists and muscarinic antagonists. **Respiratory Physiology & Neurobiology**, v. 274, p. 1-5, Mar. 2020.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.resp.2019.103358>. Disponível em:

https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1569904819302460?casa_token=B85YJ4CgZwkAAAA:sgPeZFpnl-BL4rD0Z83qWswR4_MIVhYWeu7zmrkU1YoM-HhnQC1J_qkk-GGukbNhgul7Wlt1jnI. Acesso em: 29 abr. 2022.

MARCO, A. *et al.* Overweight and CpG methylation of the *Pomc* promoter in offspring of high-fat-diet-fed dams are not “reprogrammed” by regular chow diet in rats. **The FASEB Journal**, v. 28, n. 9, p. 4148-4157, 13 June. 2014.

<http://dx.doi.org/10.1096/fj.14-255620>. Disponível em:

<https://faseb.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1096/fj.14-255620>. Acesso em: 30 jun. 2021.

MARCON, A. *et al.* Airway responsiveness to methacholine and incidence of COPD: an international prospective cohort study. **Thorax**, v. 73, n. 9, p. 825-832, 2 May 2018.

BMJ. <http://dx.doi.org/10.1136/thoraxjnl-2017-211289>. Disponível em:

<https://thorax.bmj.com/content/73/9/825.abstract>. Acesso em: 29 apr. 2022.

MATIJASEVICH, A.; DOMINGUES, M. R. Exercício físico e nascimentos pré-termo. **Rev Bras Ginecol Obstet.**, v. 32, n. 9, p. 416-420, Jan. 2010.

Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/rbgo/a/9fpSdZRMDYQH8P8369HJqZb/?lang=pt>. Acesso em: 29 abr. 2022.

MCCLEAN, K M. *et al.* Obesity and the lung: 1.Epidemiology. **Thorax**, v. 63, n. 7,

p.649-654, 1 July. 2008. <http://dx.doi.org/10.1136/thx.2007.086801>. Disponível em:

<https://thorax.bmj.com/content/63/7/649.short>. Acesso em: 26 jan. 2020.

MCFADDEN, E. R. Hypothesis: exercise-induced asthma as a vascular phenomenon. **The Lancet**, v. 335, n. 8694, p. 880-883, Apr. 1990.

[http://dx.doi.org/10.1016/0140-6736\(90\)90478-n](http://dx.doi.org/10.1016/0140-6736(90)90478-n). Disponível em:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S014067369090478N>. Acesso em:
29 abr. 2022.

NAKAMURA, H; KANAI, C; MIZUHIRA, V. An electron stain for elastic fibers using orcein. **Journal Of Histochemistry & Cytochemistry**, v. 25, n. 4, p. 306-308, Apr. 1977. <http://dx.doi.org/10.1177/25.4.858912>. Disponível em:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/858912/>. Acesso em: 29 abr. 2022.

OGDEN, C. L. *et al.* The Epidemiology of Obesity. **Gastroenterology**, v. 132, n. 6, p.2087-2102, may 2007. <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2007.03.052>. Disponível em:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0016508507005793>. Acesso em: 26 jan. 2020.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Recomendações da OMS sobre cuidados pré-natais para uma experiência positiva na gravidez**. Genebra, 2016. 10 p. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/250800/WHO-RHR-16.12-por.pdf;jsessionid=4D688D90DF26D5C033C6E29108924EC1?sequence=2>. Acesso em: 01 fev. 2021.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Diretrizes da OMS para atividade física e comportamento sedentário**. Genebra, 2020. Disponível em:
<https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/337001/9789240014886-por.pdf>. Acesso em: 29 abr. 2022.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE. **Dia Mundial da Obesidade 2022: acelerar ação para acabar com a obesidade**. Genebra, 2022. Disponível em:
<https://www.paho.org/pt/noticias/4-3-2022-dia-mundial-da-obesidade-2022-acelerar-acao-para-acabar-com-obesidade>. Acesso em: 29 abr. 2022.

OROZCO-LEVI, M.; GEA, J. El diafragma. **Archivos de Bronconeumología**, v. 8, n. 33, p. 399-441, 13 May 1997. Disponível em:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0300289615305676>. Acesso em: 26 abr. 2022.

O'SULLIVAN, M. J. *et al.* Bronchoconstriction: a potential missing link in airway remodelling. **Open Biology**, v. 10, n. 12, p. 1-9, Dec. 2020. <http://dx.doi.org/10.1098/rsob.200254>. Disponível em:
<https://royalsocietypublishing.org/doi/full/10.1098/rsob.200254>. Acesso em: 2b abr. 2022.

PEREIRA, B. C. **Efeitos do overtraining induzido através de exercício em esteira rolante sem inclinação, em alicive e em declive, no conteúdo e ativação das proteínas das vias inflamatória e de sinalização da insulina em camundongos**. 2015. 98 f. Tese (Doutorado em Reabilitação e Desempenho Funcional), Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2019. Disponível em:
<https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/17/17152/tde-31012022-183800/en.php>. Acesso em: 29 abr. 2022.

PETERS, U. *et al.* BMI but not central obesity predisposes to airway closure during bronchoconstriction. **Respirology**, v. 24, n. 6, p. 543-550, 29 Jan. 2019.

<http://dx.doi.org/10.1111/resp.13478>. Disponível em:
https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/resp.13478?casa_token=-GYqCkAgIF8AAAAA%3ACa0kl2xaNFNpqlAXr6br5b3QLyPLAdnf69HJmWb0OsRqrPTt-zFy76wgGicHipDFdTfuoqlmNcr_TpaD. Acesso em: 29 abr. 2022.

PEYRÉ-TARTARUGA, L. A. *et al.* **Apostila compilada das aulas de Treinamento Físico**. 2021. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Leonardo-Peyre-Tartaruga/publication/348690184_Apostila_compilada_das_aulas_de_Treinamento_Fisico/links/606c71ba92851c4f268652b9/Apostila-compilada-das-aulas-de-Treinamento-Fisico.pdf. Acesso em: 23 jun. 2022.

RAJIA, S.; CHEN, H.; MORRIS, M. J. Maternal Overnutrition Impacts Offspring Adiposity and Brain Appetite Markers-Modulation by Postweaning Diet. **Journal Of Neuroendocrinology**, v. 8, n. 22, p. 904-915, Apr. 2010. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2826.2010.02005.x>. Acesso em: 29 abr. 2022.

REBER, L. L. *et al.* A Dissociated Glucocorticoid Receptor Modulator Reduces Airway Hyperresponsiveness and Inflammation in a Mouse Model of Asthma. **The Journal Of Immunology**, v. 188, n. 7, p. 3478-3487, 5 Mar. 2012. <http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.1004227>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22393156/>. Acesso em: 29 abr. 2022.

RODGERS, A.; SFERRUZZI-PERRI, A. N. Developmental programming of offspring adipose tissue biology and obesity risk. **International Journal Of Obesity**, v. 45, n. 6, p. 1170-1192, 23 Mar. 2021. <http://dx.doi.org/10.1038/s41366-021-00790-w>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41366-021-00790-w.pdf>. Acesso em: 29 abr. 2022.

ROSCHEL, H.; TRICOLI, V.; UGRINOWITSCH, C. Treinamento físico: considerações práticas e científicas. **Revista Brasileira de Educação Física e Esporte**, v. 25, n., p.53-65, Dez. 2011. <http://dx.doi.org/10.1590/s1807-55092011000500007>. Disponível em: <<http://www.periodicos.usp.br/rbefe/article/view/16843>>. Acesso em: 12 jan. 2020.

RUTTING, S. *et al.* Obesity alters the topographical distribution of ventilation and the regional response to bronchoconstriction. **Journal Of Applied Physiology**, v. 128, n. 1, p. 168-177, 1 Jan. 2020. American Physiological Society. <http://dx.doi.org/10.1152/jappphysiol.00482.2019>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31751179/>. Acesso em: 12 apr. 2022.

SAMPAIO, A. C. S. **Modelo de hipernutrição neonatal induz sobrepeso, comportamento tipo-depressivo e aumenta os níveis séricos de il-1 β na idade pré-púbere de ratos**. 2020. 81 f. Dissertação (Mestrado em Patologia Ambiental e Experimental), Universidade Paulista, São Paulo, 2020. Disponível em: http://repositorio.unip.br/wp-content/uploads/tainacan-items/212/33052/patologia_ana_claudia_silva_sampaio.pdf. Acesso em: 29 abr. 2022.

SANTOS, L. M. O. *et al.* Bronchial responsiveness in an elastase-induced mouse model of emphysema. **Respiratory Physiology & Neurobiology**, v. 194, p. 9-14, Apr. 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.resp.2014.01.009>. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S156990481400010X?casa_token=e

2mpDK6q1-wAAAAA:Sh3P9SGMG7NChGeAkQTk56YyXuHcXyeOSORNtJcMxjnNI0-xtEno-J3ESpAQ5bm1qOFo3U7UzySj. Acesso em: 29 abr. 2022.

SCOTT, A. *et al.* Increased injury and intramuscular collagen of the diaphragm in COPD: autopsy observations. **European Respiratory Journal**, v. 27, n. 1, p. 51-59, 1 Jan. 2006. Disponível em: <https://erj.ersjournals.com/content/27/1/51>. Acesso em: 29 abr. 2022.

SHALABY, K. H. *et al.* Combined forced oscillation and forced expiration measurements in mice for the assessment of airway hyperresponsiveness. **Respiratory Research**, v. 11, n. 1, p. 1-24, 21 June. 2010. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20565957/>. Acesso em: 29 abr. 2022.

SCHUESSLER, T.F.; BATES, J.H.T. A computer-controlled research ventilator for small animals: design and evaluation. **Ieee Transactions On Biomedical Engineering**, v. 42, n. 9, p. 860-866, 1995. <http://dx.doi.org/10.1109/10.412653>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7558060/>. Acesso em: 29 abr. 2022.

SILVA FILHO, A. P. **Avaliação do perfil bioquímico e massa tumoral do sarcoma 180 em camundongos swiss (mus musculus) submetidos ao exercício aeróbico de moderada e alta intensidade**. 2019. 37 f. Dissertação (Mestrado em Educação Física), Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2019. Disponível em: <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/35608>. Acesso em: 29 abr. 2022.

SURITA, F. G.; NASCIMENTO, S. L. do; SILVA, J. L. P. Exercício físico e gestação. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 36, n. 12, p. 531-534, Dez. 2014. <http://dx.doi.org/10.1590/so100-720320140005176>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbgo/a/nmtqMGv4QZkQTVcJ3tTYjnc/?lang=pt>. Acesso em: 10 fev. 2022.

TAMPELINI, F. S. **Efeito do exercício físico aeróbio sobre os componentes fibroelástico e colágeno da aorta de ratos normotensos e hipertensos, sedentários e treinados**. 2008. 88 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Morfofuncionais), Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/42/42131/tde-30052008-120037/pt-br.php>. Acesso em: 29 abr. 2022.

TEIXEIRA, V. P. **Estudo da resistividade das vias aéreas em camundongos obesos**. 2014. 70 f. Dissertação (Mestrado em Biociências Aplicadas À Saúde), Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, 2014. Disponível em: <http://bdtd.unifal-mg.edu.br:8080/handle/tede/473>. Acesso em: 29 abr. 2022.

TEIXEIRA, V. P. *et al.* Postnatal overnutrition in mice leads to impaired pulmonary mechanics in response to salbutamol. **The Journal Of Physiological Sciences**, v. 66, n. 3, p. 221-228, 23 Oct. 2015. <http://dx.doi.org/10.1007/s12576-015-0417-0>. Disponível em: <https://jps.biomedcentral.com/articles/10.1007/s12576-015-0417-0>. Acesso em: 29 apr. 2022.

WEST, J. B. **Fisiologia respiratória: princípios básicos**. 9. ed. Porto Alegre: ArtMed, 2013. E-book. (1 recurso online). ISBN 9788565852791. Disponível em:

<https://integrada.minhabiblioteca.com.br/books/9788565852791>. 2022. Disponível em: <https://app.minhabiblioteca.com.br/books/9788565852791>. Acesso em: 23 jun. 2022.

WU, G.; ZHANG, X.; GAO, F. The epigenetic landscape of exercise in cardiac health and disease. **Journal Of Sport And Health Science**, v. 10, n. 6, p. 648-659, dec. 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2095254620301678>. Acesso em: 29 abr. 2022.

ANEXO A



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
 Universidade Federal de Alfenas - UNIFAL-MG
 Lei nº 11.154, de 29 de julho de 2005

Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA/UNIFAL-MG



Certificado

Certificamos que a proposta intitulada **Efeito do treinamento aeróbico na programação fetal da indução da obesidade e consequências no sistema respiratório**, registrada com o nº **0003/2020**, sob a responsabilidade de **Roseli Soncini**, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de **pesquisa científica**, com vigência de **20/04/2020 a 01/12/2021**, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA-UNIFAL) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS.

Espécie/linhagem/raça	Total de animais	Total de machos	Total de fêmeas	Origem
Roedor / Swiss	140	20	120	Biotério central

Alfenas, 11 de Maio de 2020

Prof(a). Dr(a). Leonardo Augusto de Almeida
 Coordenador(a) do CEUA/UNIFAL - MG

Para verificar autenticidade acesse: <http://sistemas.unifal-mg.edu.br/app/ceua/autenticidadecertificado/> e digite a chave: 9edd49362ed2348921150d819d56e73c