

Impacto do Treino Desportivo durante a Gravidez no Fenótipo da Descendência

Dissertação apresentada com vista à obtenção do 2º ciclo em Treino Desportivo, especialização em Treino de Alto Rendimento, da Faculdade de Desporto da Universidade do Porto, ao abrigo do Decreto-Lei nº 74/2006, de 24 de março, na redação dada pelo Decreto-Lei nº 65/2018 de 16 de agosto.

Orientador: Professor Doutor José Fernando Magalhães Pinto Pereira

Co-orientador: Sílvia Fernanda da Rocha Rodrigues Mendes

Joana Filipa Alves dos Santos Fortuna

Porto, 2019

Ficha de catalogação

Fortuna, J. (2019). Impacto do Treino Desportivo durante a Gravidez no Fenótipo da Descendência. Porto: J. Fortuna. Dissertação de Mestrado para a obtenção do grau de Mestre em Treino de Alto Rendimento Desportivo, apresentada à Faculdade de Desporto da Universidade do Porto.

Palavras-Chave: TREINO DESPORTIVO, EXERCÍCIO, GRAVIDEZ, DESCENDÊNCIA.

Dedicatória,
Aos meus pais e irmã.

Agradecimentos

“I want to say thank you to the rare few individuals in my life who have listened without judgement, spoken without prejudice, helped me without entitlement, understood without pretension and loved me without conditions.”

Kashi Paul

A presente dissertação é o culminar de um sonho, que se iniciou no 1º Ciclo de Estudos em Ciências do Desporto.

Estes dois últimos anos foram muito exigentes, tendo sido necessário redefinir prioridades e conciliar da melhor forma possível a vida pessoal, académica e profissional.

Este é o momento para expressar a minha gratidão a todos os que marcaram este meu percurso académico.

Ao Professor Doutor José Magalhães não só pela orientação desta dissertação, mas também por acreditar desde sempre em mim e nas minhas capacidades. Por, desde o início, compreender e aceitar da minha limitada disponibilidade e me apoiar em todos os momentos de maior angústia e incerteza.

À Professora Doutora Sílvia Rodrigues pela colaboração e contribuição numa parte fundamental deste estudo, nomeadamente no processo de análise de diversos parâmetros, e por todos os conhecimentos transmitidos de forma sempre tão esclarecedora.

Ao Jorge Beleza por toda a disponibilidade e cooperação. O teu percurso é um exemplo.

À Yelena Stevanovic pela simpatia e humildade com que me acolheu nos meus primeiros dias no LaMetEx, sem esquecer todos os ensinamentos nos dias que passamos juntas no i3S.

Ao Pedro Coxito pelos processos e procedimentos laboratoriais que me ensinou, sempre com a sua natural paciência.

A todos os restantes membros do LaMetEx pela partilha de conhecimentos, sem esquecer o Professor Doutor António Ascensão no início deste meu percurso. Sem dúvida que estive rodeada de pessoas idóneas e muito competentes.

A todo o corpo docente e não-docente da FADEUP por estes anos de partilha de uma paixão, o Desporto, numa casa tão especial como esta.

Aos meus pais, Manuel Fortuna e Isabel Fortuna, por tudo. Pela vida que me proporcionaram até hoje, pela educação, pelas lições de vida, pelo exemplo, pela compreensão, por todos os sacrifícios que fizeram por mim ao longo de todos estes anos, em particular o de tornarem possível licenciar-me no curso que sempre desejei. Não há palavras que expressem esta gratidão.

À minha irmã, Sara Fortuna, por todo o apoio, incentivo e pela felicidade genuína ao ver-me realizar um percurso académico que ela não teve possibilidade de realizar, mas por sentir como se do próprio se tratasse.

Ao Sérgio por ser um pilar fundamental na minha vida. Por todo o amor, paciência, lealdade, carinho e compreensão ao longo de todos estes anos juntos, em especial nestes dois últimos tão exigentes. Tu sabes.

Ao meu amigo Ricardo Oliveira por todas as horas de trabalho em conjunto e pela paciência em ouvir os meus desabafos, medos e angústias.

Aos meus colegas de curso, em especial ao João Maria Silva e Ricardo Figueiredo, por todos os momentos de partilha.

À minha entidade patronal, nas pessoas dos meus superiores (Pedro Vieira, Cláudia Santos, David Cardoso, Rui Oliveira e Sérgio Baltar), por permitirem conciliar da melhor forma possível o meu percurso académico com

a minha ocupação profissional, tendo sido sempre reconhecido o meu esforço e profissionalismo. Também a todos os meus colegas de equipa que me facilitaram trocas de turnos e dias de folga para o mesmo fim.

A todos os que me deixaram uma palavra de incentivo ao longo deste percurso.

Muito obrigada a todos!

ÍNDICE GERAL

ÍNDICE DE FIGURAS	XI
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	XIII
ÍNDICE DE QUADROS	XV
ÍNDICE DE TABELAS	XVII
RESUMO.....	XIX
ABSTRACT	XXI
LISTA DE ABREVIATURAS	XXIII
CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO.....	- 1 -
PERTINÊNCIA DO ESTUDO	- 3 -
OBJETIVOS DO ESTUDO	- 5 -
ESTRUTURA DA DISSERTAÇÃO	- 5 -

CAPÍTULO II – REVISÃO DA LITERATURA.....	- 7 -
1. Atividade Física.....	- 9 -
2. Atividade física e exercício físico em mulheres durante a gravidez.....	- 12 -
3. Alterações fisiológicas associadas à gravidez.....	- 16 -
4. Impacto do treino desportivo durante a gravidez no fenótipo da descendência.....	- 19 -
CAPÍTULO III – ESTUDO.....	- 21 -
METODOLOGIA.....	- 23 -
Caracterização da amostra.....	- 23 -
Programas de exercício.....	- 24 -
Medições anatómicas e recolha dos tecidos.....	- 25 -
Western Blot.....	- 26 -
Procedimentos estatísticos.....	- 27 -
RESULTADOS.....	- 27 -
DISCUSSÃO.....	- 36 -
CONCLUSÕES.....	- 48 -
CAPÍTULO IV – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	- 50 -

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Frequência de prática de exercício físico na Europa (União Europeia, 2017).	10
Figura 2: Desenho experimental para as mães.	24
Figura 3: Desenho experimental para a descendência.	24

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Variação de AMPk (%).	32
Gráfico 2: Variação de PGC-1 α (%).	33
Gráfico 3: Variação de TFAM (%).	34
Gráfico 4: Variação de FNDC5 (%).	35

ÍNDICE DE QUADROS

Quadro 1: Recomendações globais sobre atividade física para a saúde.	11
Quadro 2: Principais orientações para as mulheres durante a gravidez e no período pós-parto.	14

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Número da ninhada.	27
Tabela 2: Ganho de peso ao longo da gravidez (g).	28
Tabela 3: Peso à nascença (g).	28
Tabela 4: Peso do <i>Tibialis anterior</i> da descendência (g).	29
Tabela 5: <i>Maximal Workload Test</i> (MWT).	29
Tabela 6: Tempo até à exaustão (minutos).	30
Tabela 7: Lactato no final do MWT (mmol.L ⁻¹).	30
Tabela 8: Variação da concentração de glucose sanguínea entre o início e o final do MWT (%).	31
Tabela 9: Variação de AMPk (%).	31
Tabela 10: Variação de PGC-1 α (%).	32
Tabela 11: Variação de TFAM (%).	34
Tabela 12: Variação de FNDC5 (%).	35

RESUMO

A prática regular de atividade física está associada a melhorias significativas da condição física e da saúde em geral, prevenindo ou diminuindo o impacto deletério de inúmeras patologias. Pessoas com condições especiais merecem especial atenção no que respeita a recomendações quanto ao tipo, volume e intensidade de exercício físico. Neste leque de condições especiais incluem-se as mulheres grávidas e/ou em período pós-parto (primeiro ano após o parto).

Com base num trabalho realizado no modelo animal, assumimos como objetivo geral deste estudo compreender o impacto do treino desportivo realizado durante o período de gravidez na modulação do fenótipo de performance da descendência. A amostra foi constituída por 16 ratos Sprague-Dawley fêmeas com 5 semanas de idade, distribuídos aleatoriamente por 2 grupos: 1) Grávidas Sedentárias (GS, n=8); 2) Grávidas Exercitadas (GE, n=8). Relativamente à descendência, a amostra foi constituída por 8 animais por grupo. Durante as 17 semanas de protocolo experimental, os animais da amostra inicial foram submetidos a uma dieta controlo. Os animais do grupo GE iniciaram o programa de exercício após a confirmação de início da gestação, tendo acesso à roda livre, 24h por dia, durante o mesmo período.

Os animais submetidos ao programa de exercício exibiram um ganho de peso ao longo da gravidez significativamente inferior. O número da ninhada não revelou diferenças estatisticamente significativas. Relativamente à descendência, verificamos diferenças estatisticamente significativas no peso à nascença, no MWT, no tempo até à exaustão, no lactato no final do MWT e na variação da concentração de glucose sanguínea entre o início e o final do MWT. O programa de exercício aplicado à amostra inicial induziu alterações significativas na expressão proteica de AMPk, PGC-1 α , TFAM e FNDC5 na sua descendência.

Os resultados do nosso estudo sugerem que o treino desportivo realizado durante o período de gestação acarreta implicações positivas do ponto de vista da performance e de parâmetros relacionados com a saúde no fenótipo da descendência de mulheres atletas.

Palavras-Chave: TREINO DESPORTIVO, EXERCÍCIO, GRAVIDEZ, DESCENDÊNCIA.

ABSTRACT

Regular physical exercise has been unanimously considered as a very important non-pharmacological tool that is associated both to the increase in physical fitness of high performance athletes as well as with several health-related parameters, preventing or mitigating the deleterious consequences induced by innumerable pathologies. Nevertheless, particular moments of our lives deserve special approaches regarding exercise prescription features, such as the duration, the type, the intensity or the volume of training in which persons are engaged. In this myriad of special conditions, we can include women in the gestational period or in the first year after pregnancy.

Based in an animal model study, the aim of the present study was to understand the impact of exercise training performed during the gestational period in the phenotype of the mothers and, in particular, in several performance related-parameters of the offsprings. For that, sixteen (16) female Sprague-Dawley rats were randomly divided in two groups (Sedentary pregnant - GS and Exercised pregnant - GE), being the trained animals submitted to an exercise program during 3 weeks. In the same way, 8 animals per group were used to study the impact of the training protocol in the offspring. During the 17 weeks of the experimental protocol, all the animals were submitted to a control diet. The mothers of the training group started the endurance training program in the treadmill after confirmation of the pregnancy and had free access to a running wheel in the cage for 24h/day.

The trained mothers exhibited a decreased weight gain throughout the gestational period; however, the number of pups was similar in both groups. Regarding offspring animals, significant differences were found between groups in their weight after birth, in the time to exhaustion and lactate concentrations in the end of a maximal workload test (MWT) and in the variation of glycemia between the beginning and the end of this performance test. Moreover, the training program of the GE animals, induced changes in the expression of

several proteins related to the cellular metabolism of the pups, namely AMPk, PGC-1 α , TFAM and FNDC5.

In conclusion, data from the present study suggest that exercise training programs performed throughout the gestational period induces a positive impact on the phenotype of both mothers and pups with particular relevance on physical fitness and health-related parameters.

Palavras-Chave: PHYSICAL TRAINING, EXERCISE, PREGNACY, OFFSPRING.

LISTA DE ABREVIATURAS

AMPK	do inglês, <i>AMP-activated protein kinase</i>
BCA	do inglês, <i>bicinchoninic acid</i>
BSA	do inglês, <i>bovine serum albumin</i>
EDTA	do inglês, <i>ethylenediaminetetraacetic acid</i>
FNDC5	do inglês, <i>fibronectin type III domain containing 5</i>
mtDNA	do inglês, <i>mitochondrial DNA</i>
PGC1- α	do inglês, <i>peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1 alpha</i>
RIPA	do inglês, <i>radio immuno precipitation assay</i>
SDS	do inglês, <i>sodium dodecyl sulfate</i>
SDS-poliacrilamida	do inglês, <i>sodium dodecyl sulfate - poliacrilamida</i>
TBS-T	do inglês, <i>tris-buffered saline, 0,1% tween 20</i>
TFAM	do inglês, <i>mitochondrial transcription factor A</i>
TRIS-HCl	do inglês, <i>tris-buffered saline, with hydrochloric acid</i>

CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO

PERTINÊNCIA DO ESTUDO

A prática regular de atividade física está associada a melhorias significativas da condição física e da saúde em geral, prevenindo ou diminuindo o impacto deletério de inúmeras patologias. Na verdade, a literatura científica atual demonstra inequivocamente que mesmo indivíduos com doenças crônicas ou portadores de algum tipo de deficiência beneficiam de uma prática regular de atividade física.

A atividade física é entendida como qualquer movimento corporal produzido pela contração dos músculos esqueléticos que aumenta significativamente o dispêndio energético relativamente a valores de repouso, independentemente do contexto em que se realiza (atividade física de lazer, exercício, desporto, deslocação, trabalho ocupacional, tarefas domésticas, jardinagem, entre outras). Por seu lado, o exercício físico é um tipo específico de atividade física que é planeada, estruturada e repetitiva com o objetivo de melhorar ou manter a condição física.

Pessoas com condições especiais merecem especial atenção no que respeita a recomendações quanto ao tipo, volume e intensidade de exercício físico. Neste leque de condições especiais incluem-se as mulheres grávidas e/ou em período pós-parto (primeiro ano após o parto).

Tendo em conta o referido anteriormente, o exercício físico tornou-se uma parte fundamental na vida de muitas mulheres, incluindo no período associado à gravidez. Assim sendo, este fato acarreta uma necessidade acrescida de se clarificar de forma muito precisa os efeitos decorrentes da prática de exercício físico durante o período gestacional para a mãe e para o feto. De facto, exercício físico é um estímulo que afeta de forma positiva a funcionalidade de muitos sistemas no nosso corpo e, além disso, tem sido sugerido como passível de propiciar a ocorrência de modificações transgeracionais (Guth et al., 2013).

A maioria dos trabalhos existentes têm centrado o seu foco de estudo nos fatores que influenciam de forma positiva o estado de saúde da mãe praticante de exercício físico durante o período gestacional e a forma como esta condiciona o fenótipo da descendência. Contudo, outros estudos (Amati et al., 2019; Biagi et al., 2019; Huang et al., 2017; Kereliuk et al., 2017; Switkowski et al., 2016; Panchenko et al., 2015; Pasternak et al., 2013; Yang & Huffman, 2013; Guth et al., 2013) parecem igualmente evidenciar que inúmeros fatores dietéticos e ambientais, entre os quais a prática de exercício físico, podem influenciar a saúde da descendência através, inclusivamente, da linha paterna.

Como exemplo, num trabalho desenvolvido no modelo animal, Guth et al. (2013) sugerem que sucessivas gerações de descendentes oriundos de progenitores que praticaram exercício físico exibiram fenótipos morfológicos, metabólicos e de expressão genética vantajosos em comparação com descendentes de progenitores sedentários. Efetivamente, foram observadas evidências preliminares de que a prática de treino desportivo por parte dos pais pode influenciar os fenótipos relacionados com a saúde (por exemplo, massa corporal e massa gorda, expressão genética muscular) em ninhadas de ratos. Os resultados destes trabalhos sugerem que o exercício físico parental pode ser outro fator ambiental capaz de influenciar os fenótipos da descendência.

Como referimos anteriormente, trabalhos recentes sugerem que os efeitos positivos induzidos pela prática de exercício físico durante a gravidez incluíram a redução do risco potencial para o desenvolvimento de diabetes gestacional e hipertensão induzida pela gravidez, diminuição dos sintomas de depressão pós-parto e diminuição da incidência de incontinência urinária e pré-eclâmpsia sem aumento do risco de parto prematuro. No entanto, surpreendentemente, estudos mais recentes (Rodríguez-Blancue et al., 2017; Hinman et al., 2015; Padayachee & Coombes, 2015; Moyer et al., 2015; Lewis, 2014; Szumilewicz et al., 2013) têm demonstrado que só a prática de exercício físico sistemático e bem controlado durante o período de gravidez parece ter benefícios não só para a mãe mas, também, para a sua descendência.

OBJETIVOS DO ESTUDO

Com base num trabalho realizado no modelo animal, assumimos como objetivo geral deste estudo compreender o impacto do treino desportivo realizado durante o período de gravidez na modulação do fenótipo de performance da descendência. Este é, por razões óbvias, um tema de relevância muito importante no contexto do alto rendimento e da performance das mães e um tópico de interface entre o treino desportivo e a saúde com repercussões transgeracionais de extrema atualidade científica.

Os objetivos específicos são:

- a) Analisar as consequências do exercício físico realizado durante a gravidez em parâmetros gerais de progeneritura e avaliação morfométrica;
- b) Avaliar os efeitos da prática de exercício físico durante a gravidez na alteração do fenótipo muscular esquelético da descendência às 16 semanas de vida.

ESTRUTURA DA DISSERTAÇÃO

A presente dissertação encontra-se estruturada de acordo com as normas orientadoras de redação e apresentação de dissertações de Mestrado impostas pela Faculdade de Desporto da Universidade do Porto, estando divididas em 4 capítulos, caracterizados de acordo com os propósitos de cada um.

O capítulo I é composto pela introdução do trabalho, que contempla a justificação e pertinência do presente estudo, a definição dos objetivos e a apresentação da estrutura da dissertação.

O capítulo II contempla a revisão da literatura, o qual está dividido em quatro partes, que têm por objetivo dar a conhecer o estado atual de conhecimentos no domínio e assunto particular em que a dissertação se desenvolve.

O capítulo III refere-se ao estudo propriamente dito, sendo descrita a metodologia (caracterização da amostra, programas de exercício, medições anatómicas e recolha dos tecidos, técnica de Western blotting e procedimentos estatísticos), suportando a investigação, bem como a fiabilidade dos dados. Neste capítulo serão também apresentados os resultados obtidos, a sua discussão e as conclusões do estudo.

No capítulo IV encontram-se as referências bibliográficas das citações incluídas no trabalho.

CAPÍTULO II – REVISÃO DA LITERATURA

1. Atividade Física

A prática regular de atividade física está associada a melhorias significativas da condição física e da saúde em geral, prevenindo ou diminuindo o impacto deletérios de um conjunto de sinais ou sintomas associados a inúmeras condições patológicas de que são exemplo a diabetes, as doenças cardiovasculares, as doenças hepáticas e a degeneração do sistema nervoso central associado ao envelhecimento. Adicionalmente, é hoje uma evidência científica irrefutável que mesmo indivíduos com doenças crónicas ou portadores de deficiência beneficiam positivamente de uma prática regular de exercício físico.

De uma forma geral, a atividade física é entendida como qualquer movimento corporal produzido pela contração dos músculos esqueléticos que aumenta significativamente o dispêndio energético relativamente a valores de repouso, independentemente do contexto em que se realiza (atividade física de lazer, exercício, desporto, deslocação, trabalho ocupacional, tarefas domésticas, jardinagem, entre outras). No entanto, de uma forma mais específica, o exercício físico é um tipo específico de atividade física que é planeada, estruturada e repetitiva com o objetivo de melhorar a performance desportiva e/ou incrementar ou manter a condição física, com repercussões positivas evidentes em parâmetros relacionados com a saúde dos praticantes.

De acordo com informações muito recentes da União Europeia (European Union, 2017), a percentagem de cidadãos sedentários nos diferentes países é verdadeiramente preocupante atingindo um valor médio de cerca de 46% e sendo que somente 7% dos europeus realiza exercício físico de forma sistemática. Neste contexto, Portugal apresenta-se na “cauda” deste *ranking* evidenciando uma percentagem de cerca de 68% da população que nunca teve qualquer ligação ou contacto com uma prática de exercício físico mais formal.

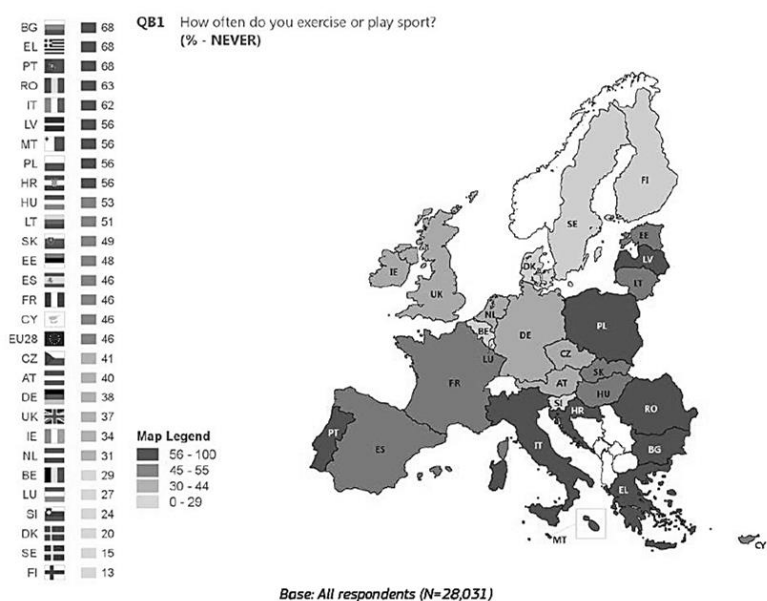


Figura 1. Frequência de prática de exercício físico na Europa (União Europeia, 2017).

Adicionalmente, segundo dados da Organização Mundial de Saúde (OMS), a inatividade física tem sido identificada como o quarto fator de risco de mortalidade, representando, globalmente, 6% das mortes. Além disso, estima-se que a inatividade física seja a causa principal de aproximadamente 21 a 25% de cânceres da mama e do colón e 30% de cardiopatia isquémica, entre outros. Adicionalmente, os níveis de inatividade física estão a aumentar, com implicações muito negativas na prevalência de doenças crónicas, de que são exemplo a obesidade, as doenças cardiovasculares, a diabetes, ou as doenças hepáticas na população em todo o mundo.

Assim sendo, um consenso generalizado por parte da comunidade científica, relativamente aos atributos positivos da prática regular de exercício físico no contexto da saúde pública, tem vindo a aumentar a pressão sobre as entidades governamentais para a necessidade de criar diretrizes para a sua prática, no que respeita ao tipo, duração, intensidade, densidade, frequência e volume de exercício físico. Deste modo, em 2010, a OMS desenvolveu um documento intitulado “Global Recommendations on Physical Activity for Health”. Estas recomendações, baseadas em evidências científicas, têm como alvos

três grupos etários: dos 5 aos 17 anos de idade, dos 18 aos 64 anos de idade e dos 65 anos de idade ou mais. O quadro 1 apresenta essas recomendações.

Quadro 1: Recomendações globais sobre atividade física para a saúde.

Recommended levels of physical activity for health	
5 - 17	Children and young people aged 5–17 years old should accumulate at least 60 minutes of moderate to vigorous-intensity physical activity daily.
	Physical activity of amounts greater than 60 minutes daily will provide additional health benefits.
	Most of daily physical activity should be aerobic. Vigorous-intensity activities should be incorporated, including those that strengthen muscle and bone, at least 3 times per week.
18 - 64	Adults aged 18–64 years should do at least 150 minutes of moderate-intensity aerobic physical activity throughout the week, or do at least 75 minutes of vigorous-intensity aerobic physical activity throughout the week, or an equivalent combination of moderate- and vigorous-intensity activity.
	Aerobic activity should be performed in bouts of at least 10 minutes duration.
	For additional health benefits, adults should increase their moderate-intensity aerobic physical activity to 300 minutes per week, or engage in 150 minutes of vigorous-intensity aerobic physical activity per week, or an equivalent combination of moderate- and vigorous-intensity activity.
≥ 65 +	Muscle-strengthening activities should be done involving major muscle groups on 2 or more days a week.
	Adults aged 65 years and above should do at least 150 minutes of moderate-intensity aerobic physical activity throughout the week, or do at least 75 minutes of vigorous-intensity aerobic physical activity throughout the week, or an equivalent combination of moderate- and vigorous-intensity activity.
	Aerobic activity should be performed in bouts of at least 10 minutes duration.
	For additional health benefits, adults aged 65 years and above should increase their moderate intensity aerobic physical activity to 300 minutes per week, or engage in 150 minutes of vigorous intensity aerobic physical activity per week, or an equivalent combination of moderate- and vigorous intensity activity.
	Adults of this age group with poor mobility should perform physical activity to enhance balance and prevent falls on 3 or more days per week.
	Muscle-strengthening activities should be done involving major muscle groups, on 2 or more days a week.
When adults of this age group cannot do the recommended amounts of physical activity due to health conditions, they should be as physically active as their abilities and conditions allow.	

Fonte: World Health Organization, 2010.

O princípio geral subjacente a este documento pressupõe que ser-se fisicamente ativo é uma das estratégias não farmacológicas mais importantes a implementar em pessoas de todas as idades e que se correlaciona positivamente com os atributos implícitos de uma prática desportiva mais formal, bem como com a melhoria indiscutível dos índices relacionados com a sua saúde.

2. Atividade física e exercício físico em mulheres durante a gravidez

Tendo em conta todos os possíveis cenários que enquadram a prática de exercício físico, algumas pessoas possuem ou encontram-se “momentaneamente” em condições que merecem uma especial atenção relativamente ao tipo e volume de exercício físico praticado. Como exemplo, incluem-se neste tipo de praticantes mulheres saudáveis durante o período de gravidez e no período pós-parto (primeiro ano após o parto).

O sedentarismo é o quarto fator de risco de morte prematura em todo o mundo (OMS, 2010) e, na gravidez, a inatividade física e o excesso de peso têm sido reconhecidos como fatores de risco independentes para a obesidade materna e complicações relacionadas com a gravidez, incluindo a diabetes mellitus gestacional (American College of Obstetricians and Gynecologists, 2013; Dye et al., 1997; Artal, 2015).

Assim sendo, independentemente das alterações fisiológicas específicas induzidas pela gravidez, que são primariamente desenvolvidas para atender às crescentes exigências metabólicas da mãe e do feto, as mulheres grávidas beneficiam de uma prática de atividade física regular da mesma forma que mulheres não grávidas (Melzer et al., 2010). Efetivamente, trabalhos recentes sugerem inúmeros efeitos positivos relacionados com a prática de exercício físico em mulheres grávidas, dos quais se destacam o controlo mais assertivo do peso e controlo da obesidade, a redução do risco potencial de desenvolvimento da diabetes gestacional e hipertensão induzida pela gravidez,

a diminuição da incidência de incontinência urinária e pré-eclâmpsia, diminuição do risco de parto prematuro, bem como a diminuição dos sintomas de depressão pós-parto.

De acordo com o referido, em 2016, a OMS publicou um documento intitulado “WHO Recommendations on Prenatal Care for a Positive Pregnancy Experience”. Na lista sumária de cuidados pré-natais, para uma experiência positiva na gravidez, esta entidade aconselha as mulheres grávidas a ter uma alimentação saudável e a realizarem exercício físico durante a gravidez, mantendo-se saudáveis e evitando o ganho excessivo de peso. O mesmo documento menciona, ainda, que um estilo de vida saudável inclui atividade física aeróbia e exercícios de reforço muscular “desenhados” para manter um nível de condição física adequado durante a gravidez. Por razões óbvias, e particularmente para aquelas não habitualmente envolvidas em programas formais de exercício físico, as mulheres grávidas devem escolher atividades que minimizem o risco de perda de equilíbrio e trauma fetal. Adicionalmente, as mulheres grávidas devem estar constantemente sob escrutínio clínico atento e, assim sendo, ser-lhes dada a possibilidade de discutir a sua prática de exercício físico durante a gravidez e após o nascimento do bebé por forma a maximizar os benefícios, eventualmente associados à sua performance desportiva enquanto atletas e aos seus índices de saúde, e minimizar os eventuais efeitos deletérios associados a uma prática desregulada.

Em 2018, o U. S. Department of Health and Human Services publicou a segunda edição das Diretrizes de Atividade Física para Americanos. No capítulo 6, “Additional Considerations for Some Adults”, abordam a atividade física em mulheres durante a gravidez e o período pós-parto.

Quadro 2: Principais orientações para as mulheres durante a gravidez e no período pós-parto.

Key guidelines for women during pregnancy and the postpartum period
Women should do at least 150 minutes (2 hours and 30 minutes) of moderate-intensity aerobic activity a week during pregnancy and the postpartum period. Preferably, aerobic activity should be spread throughout the week.
Women who habitually engaged in vigorous-intensity aerobic activity or who were physically active before pregnancy can continue these activities during pregnancy and the postpartum period.
Women who are pregnant should be under the care of a health care provider who can monitor the progress of the pregnancy. Women who are pregnant can consult their health care provider about whether or how to adjust their physical activity during pregnancy and after the baby is born.

Fonte: U. S. Department of Health and Human Services, 2018.

No contexto da prática de exercício físico durante a gravidez, a percepção subjetiva de esforço parece ser um melhor indicador de intensidade comparativamente à frequência cardíaca (FC). Tendo em conta as necessidades “extras” relacionadas com o suprimento de nutrientes e o reforço ao feto durante a gravidez, o débito cardíaco da mãe tem tendência a aumentar durante este período essencialmente à custa de um aumento da frequência cardíaca. Efetivamente, a FC aumenta durante uma gestação normal de forma progressiva em cerca de 10 a 20 bpm, atingindo a sua FC_{máx} no terceiro trimestre (Sanghavi & Rutherford, 2014), estimando-se um incremento de 20 a 25% relativamente aos valores basais. Por esta razão, e tendo em conta as implicações do aumento da FC durante o exercício e o condicionamento do controlo da carga por esta via, a percepção subjectiva de esforço tem sido sugerida como um método alternativo. Assim sendo, para mulheres habitualmente não envolvidas em atividades com intensidades muito vigorosas, as atividades recomendadas são de intensidade moderada a intensa e situam-se entre 5 e 6 numa escala de 0 a 10.

Adicionalmente, as mulheres devem evitar realizar exercícios que envolvam estar deitadas de costas depois do primeiro trimestre de gravidez, uma vez que esta posição pode restringir o fluxo de sangue para o útero e feto. Devem ainda evitar participar em atividades e/ou desportos de contacto com elevado risco de queda ou trauma abdominal. Importa, no entanto, mais uma vez reforçar que a atividade física e o exercício físico, na gravidez são seguros

e as mulheres grávidas devem ser encorajadas a fazê-lo, se não se verificarem complicações ou contra-indicações obstétricas ou clínicas. Por razões óbvias, em mulheres que apresentam comorbidades obstétricas, a prescrição de exercício físico deve ser o mais individualizado possível (American College of Obstetricians and Gynecologists, 2015). No limite, existem algumas contra-indicações absolutas para a prática de exercício aeróbio durante a gravidez, como doenças cardíacas hemodinamicamente significativas, doença pulmonar restritiva, cólo do útero incompetente, gestação múltipla em risco de trabalho de parto prematuro, sangramento persistente no segundo ou terceiro trimestres, placenta prévia/baixa após as 26 semanas de gestação, trabalho de parto prematuro durante a gravidez atual, rutura de membranas, pré-eclâmpsia e anemia grave. Como contra-indicações relativas existe a anemia, arritmia cardíaca materna não avaliada, bronquite crónica, diabetes do tipo mal controlado, obesidade mórbida extrema, baixo peso extremo ($IMC < 12$), histórico de estilo de vida extremamente sedentário, restrição de crescimento intra-uterino na gravidez atual, hipertensão mal controlada, limitações ortopédicas, distúrbio convulsivo mal controlado, hipertiroidismo mal controlado e ser fumadora excessiva.

Apesar do exercício aeróbio ser amplamente recomendado para manter a aptidão cardiovascular e evitar o ganho de peso excessivo na generalidade das mulheres grávidas (Nascimento et al., 2012), nomeadamente envolvendo atividades que recrutem vários grupos musculares, como caminhada, corrida, bicicleta estática, passadeira, natação, exercícios aeróbios aquáticos, dança aeróbia e outros exercícios aeróbios de baixo impacto, alguns estudos recentes recomendam, igualmente, exercícios de força muscular, realizados uma ou duas vezes por semana em dias não consecutivos, com 8 a 10 exercícios por sessão (Zavorsky & Longo, 2011). Neste contexto, o American College of Obstetricians and Gynecologists recomenda que todas as mulheres grávidas sigam as diretrizes gerais emanadas pelo American College of Sports Medicine (ACSM) para o exercício físico através de um compromisso de 30 minutos ou mais de exercício físico moderado por dia, preferencialmente todos os dias da semana. Por seu lado, e como já referimos anteriormente, as mulheres que

eram ativas antes da gravidez podem e devem continuar as suas atividades, ajustando a intensidade e frequência durante a gravidez.

3. Alterações fisiológicas associadas à gravidez

A gravidez resulta em necessidades especiais para a mulher, devido às óbvias necessidades do feto para o seu desenvolvimento, nomeadamente um aporte adequado de nutrientes, minerais, vitaminas e, obviamente, um ambiente fisiologicamente estável, essencial para o processamento desses nutrientes. É para manter este cenário de equilíbrio que se deve avaliar a implementação de um programa de exercício físico em mulheres grávidas.

Num artigo de revisão publicado por Melzer e colaboradores (2010) os autores sugerem que mulheres que engravidam sofrem alterações profundas no sistema cardiovascular, independentemente do seu nível de treino e que influenciam de forma determinante parâmetros fisiológicos como sejam: a) o aumento do VO_2 max em repouso e em exercício submáximo; b) o aumento da frequência cardíaca em repouso e em exercício submáximo; c) o aumento do volume plasmático e do número de glóbulos vermelhos; d) o aumento do volume sanguíneo; o aumento do volume cardíaco; e) o aumento do quociente respiratório (Q); f) a diminuição da pressão sanguínea.

Powers & Howley (2015) reforçam esta ideia sugerindo que, comparativamente ao estado de não gravidez, as principais adaptações cardiovasculares e metabólicas associadas à gestação são o aumento do volume sanguíneo em 40 a 50%, o consumo de oxigénio para exercícios com sustentação de peso significativamente aumentado, o débito cardíaco mais elevado em repouso e durante exercício submáximo nos dois primeiros trimestres e, ainda, que no terceiro trimestre, o débito cardíaco fica mais baixo, sendo maior a possibilidade de ocorrer hipertensão arterial.

Importa referir que a prática de exercício físico moderado não parece comprometer o aporte de oxigénio para o feto e que a resposta da frequência

cardíaca do feto não exibe sinais de stress acrescido. A frequência cardíaca do feto aumenta com a intensidade e a duração do exercício, retornando gradualmente ao normal durante a recuperação pós-exercício (Wolfe, 2005; Wolfe et al., 1994; Wolfe et al., 1989). Foi demonstrado que o débito cardíaco fica mais elevado por volta da 26ª semana de gestação durante o exercício submáximo em comparação com 8 semanas após o parto (Powers & Howley, 2015). A observação de uma menor diferença (a-v) O₂ sugere a distribuição do débito cardíaco mais elevado por outros “leitos” vasculares (por exemplo, útero), com manutenção do fluxo sanguíneo muscular (Wolfe et al., 1989).

Em trabalho desenvolvido por Clapp & Capeless (1991), os autores sugerem que praticantes bem treinadas e envolvidas em atividades recreativas, que treinaram ao longo de toda a gravidez continuando no pós-parto, o VO₂max absoluto aumentou até às 36-44 semanas do pós-parto, em comparação com um grupo de controlo de mulheres que mantiveram o treino e não engravidaram. Surpreendentemente, estes resultados sugerem que a manutenção do programa de treino durante o período de gestação resultou em adaptações mais expressivas do que as conseguidas exclusivamente através do treino. Estudos adicionais serão importantes para confirmar esta surpreendente assunção.

Tendo em conta este contexto particular e a necessidade de incrementar o aporte de nutrientes para a mãe e para o feto, neste momento específico da vida das mulheres, vários estudos têm demonstrado que, por vezes, há um significativo descontrolo nutricional que se caracteriza por um excesso de ingestão de determinados nutrientes, nomeadamente lípidos e hidratos de carbono com implicações nefastas do ponto de vista da manutenção do peso e constrangimentos metabólicos de que são exemplo a diabetes gestacional ou a doença hepática não alcoólica, vulgarmente conhecida como “fígado gordo”.

Enquanto o consumo excessivamente calórico e o sedentarismo impulsionam a epidemia da obesidade, referências epidemiológicas no âmbito da saúde e sistemas experimentais de modelo animal estabelecem alterações no ambiente pré-natal durante os períodos cruciais do desenvolvimento de sistemas biológicos que parecem influenciar a susceptibilidade da

descendência a condições patológicas (Barker & Osmond, 1987; McMillen & Robinson, 2005).

De facto, a gravidez consiste numa série de pequenos e contínuos ajustes que afetam a regulação do metabolismo perante todos os nutrientes (King, 2000). As naturais mudanças no comportamento alimentar materno e a prática de exercício físico durante a gestação podem aumentar os ajustes fisiológicos necessários para suprir as necessidades da mãe e do feto. Apesar das exigências do feto em nutrientes ocorrer primariamente durante a última metade da gestação quando mais de 90% do crescimento do feto ocorre, os ajustes metabólicos são notórios logo a partir das primeiras semanas de gestação (Hytten & Chamberlain, 1980).

Como exemplo, alguns trabalhos têm demonstrado que a gravidez é caracterizada por alterações no metabolismo lipídico materno, que pode ser dividido em 2 fases: uma fase anabólica e uma fase catabólica (Wang et al., 2016; Herrera, 2002). A fase anabólica ocorre nos primeiros dois trimestres da gestação e é atribuído a diversos fatores que aumentam o acúmulo de lípidos nos tecidos maternos (Villar et al., 1992). A mudança para o estado catabólico ocorre no terceiro trimestre da gestação e é caracterizada por uma quebra acelerada de depósitos de gordura como consequência da maior atividade lipolítica do tecido adiposo (Zeng et al., 2017).

Estudos de coorte foram replicados com dieta rica em gordura em modelos animais e sugerem que uma dieta com alto teor calórico, tanto na presença como na ausência de obesidade materna, resulta num ambiente intra-uterino desfavorável, originando risco de obesidade, intolerância à glicose e diabetes (Elsakr et al., 2019). Desta forma, as futuras gerações podem enfrentar as consequências das dietas maternas densamente calóricas e da obesidade.

No entanto, a prática regular de exercício físico tem sido assumida como a principal estratégia não farmacológica para prevenir ou atenuar os efeitos deletérios associados a este cenário patológico de implicações muito negativas para mãe e para o próprio feto.

De facto, os benefícios maternos associados à prática de exercício físico durante a gravidez incluem a melhoria da função cardiovascular, ganho de peso limitado na gravidez, diminuição do desconforto músculo-esquelético, redução da incidência de câimbras musculares ou edema nos membros inferiores, estabilidade do humor, atenuação da diabetes mellitus gestacional e hipertensão gestacional (Melzer et al., 2010). Os benefícios para o feto incluem a diminuição da massa gorda, melhor tolerância ao stress e avançada maturação neuro-comportamental (Melzer et al., 2010). Alguns estudos referem ainda que a prática de exercício físico durante a gravidez resulta num trabalho de parto mais curto, assim como numa diminuição da probabilidade de realização de parto por cesariana, conseguindo uma recuperação pós-parto mais rápida (American College of Obstetricians and Gynecologists, 2015).

Assim, verifica-se que as alterações na ingestão de alimentos e na prática de exercício físico durante a gravidez podem afetar a quantidade de energia e nutrientes disponíveis para o crescimento do feto (King, 2000), com consequências nefastas tanto para a mãe como para a descendência.

4. Impacto do treino desportivo durante a gravidez no fenótipo da descendência

As mulheres que habitualmente realizavam atividades de intensidade vigorosa ou regimes de treino de exercícios aeróbios ou de força muscular significativos antes da gravidez podem continuar a ser fisicamente ativas durante a gravidez e após o parto (U. S. Department of Health and Human Services, 2018). De uma forma geral, e tendo em conta as restrições referidas nos pontos anteriores, não é necessário reduzir drasticamente os níveis de atividade, desde que não surjam complicações fisiológicas ou patológicas com significado quer para a mãe quer para o feto e que, naturalmente, sejam monitorizadas de forma adequada e assídua do ponto de vista clínico.

No entanto, o impacto da prática de regimes de treino desportivo durante a gravidez de mulheres atletas na sua descendência é uma área de

investigação muito recente e da qual os resultados atualmente disponíveis ainda são muito escassos. Efetivamente, os poucos estudos existentes referem-se na sua maioria a parâmetros morfológicos da descendência, como o peso corporal à nascença.

Assim sendo, com esta dissertação pretende-se contribuir para o desenvolvimento do conhecimento nesta área e compreender de que forma o treino desportivo realizado durante o período de gestação acarreta implicações positivas ou, porventura, negativas do ponto de vista da performance e de parâmetros relacionados com a saúde no fenótipo da descendência de mulheres atletas.

Por razões que têm a ver com a exequibilidade da análise de parâmetros e de vias de sinalização metabólicas em diferentes tecidos, nomeadamente no músculo esquelético, este trabalho faz parte de um projeto mais amplo que visa uma interpretação vasta e detalhada destes mecanismos no modelo animal.

CAPÍTULO III – ESTUDO

METODOLOGIA

Caracterização da amostra

A amostra foi constituída por 16 ratos Sprague-Dawley fêmeas com 5 semanas de idade, distribuídos aleatoriamente por 2 grupos:

- 1) Grávidas Sedentárias (GS, n=8)
- 2) Grávidas Exercitadas (GE, n=8)

No decorrer do protocolo, os animais foram mantidos em gaiolas colectivas, em biotério e numa atmosfera normal (21-22°C, 50-60% humidade), com comida e água *ad libitum*, e num ciclo invertido de 12 horas dia/noite.

Durante as 17 semanas de protocolo experimental, os animais foram submetidos a uma dieta controlo (D12450K, ssniff), sendo 10% das Kcal derivadas dos lípidos, 20% das Kcal derivadas das proteínas e 70% das Kcal derivadas dos hidratos de carbono, adquirida à empresa ssniff (Soest, Alemanha).

Os animais do grupo GE iniciaram o programa de exercício após a confirmação de início da gestação, tendo acesso à roda livre, 24h por dia, durante o mesmo período, sendo que a distância percorrida foi registada usando um contador digital.

Relativamente à descendência, a amostra foi constituída por 8 animais por grupo.

- Mães

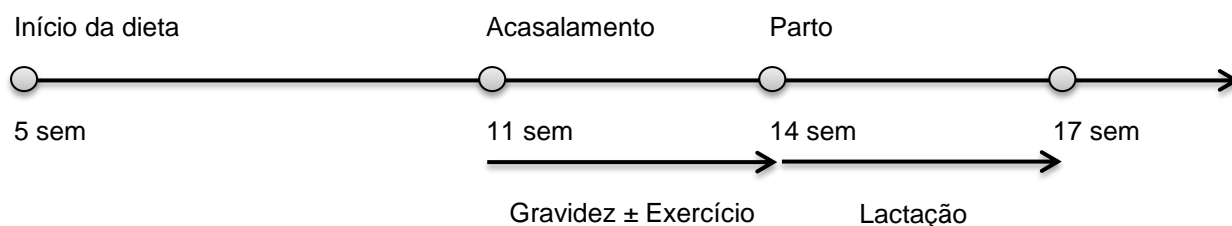


Figura 2. Desenho experimental para as mães.

- Descendência

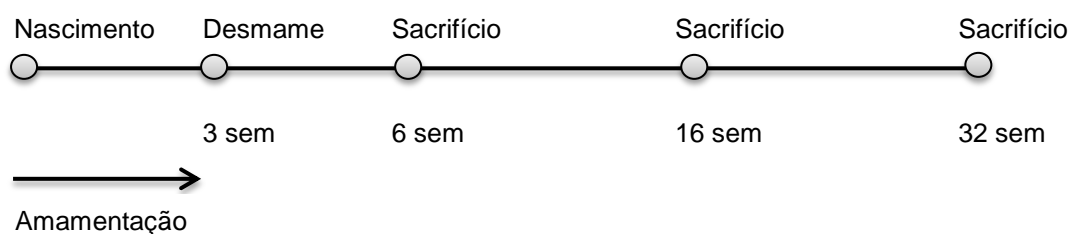


Figura 3. Desenho experimental para a descendência.

O presente estudo foi aprovado pelo comitê de ética institucional, que segue as *Guidelines* para o tratamento e uso de animais de laboratório em investigação, aconselhados pela *Federation of European Laboratory Animal Science Associations* (FELASA).

Programas de exercício

Os animais do grupo que participou no programa de exercício (GE) foram alojados em gaiolas equipadas com rodas livres com medidores digitais de distância. As distâncias percorridas foram medidas entre as 8h00 e as 10h00. Os animais submetidos ao protocolo de treino de endurance (GE) tiveram a primeira semana de adaptação à passadeira rolante, sendo submetidos nos primeiro e segundo dias apenas a 15 minutos de contacto com

a passadeira, no terceiro dia sem contacto com a passadeira por ser o primeiro dia do acasalamento, nos quarto e quinto dias submetidos a 20 minutos de corrida a uma velocidade inicial de 15 cm.s^{-1} , aumentando progressivamente até 25 cm.s^{-1} . Durante as sessões de treino, a velocidade foi aumentada gradualmente para atender às adaptações dos animais durante todo o protocolo. Na primeira semana do programa de exercício propriamente dito correram 20 minutos a uma velocidade inicial de 15 cm.s^{-1} , aumentando progressivamente até 25 cm.s^{-1} no primeiro dia, sendo que no último dia da semana correram 60 minutos a uma velocidade inicial de 15 cm.s^{-1} , aumentando progressivamente até 35 cm.s^{-1} . Na semana seguinte correram 60 minutos todos os dias a uma velocidade inicial de 15 cm.s^{-1} aumentando progressivamente até 35 cm.s^{-1} . Na terceira e última semana do programa de exercício correram 60 minutos todos os dias a uma velocidade inicial de 20 cm.s^{-1} , aumentando progressivamente até 35 cm.s^{-1} .

Medições anatómicas e recolha dos tecidos

Antes do sacrifício, todos os animais estiveram em jejum durante a noite por um período de 12h com acesso a água potável. Os animais foram pesados no dia do sacrifício e anestesiados (cetamina 90 mg.kg^{-1} e xilazina 10 mg.kg^{-1}) entre as 8h00 e as 10h00 da manhã para eliminar possíveis efeitos da variação circadiana. De seguida, procedeu-se à abertura da cavidade abdominal e torácica, os órgãos foram perfundidos com NaCl 0,9% e os depósitos de gordura (omental, mesentérico, perirenal, retroperitoneal e epididimal) foram excisados, lavados e cuidadosamente secos e pesados.

O músculo esquelético *Tibialis anterior* foi retirado e armazenado para determinar o conteúdo de diferentes proteínas (PGC-1 α - *peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1 alpha*; AMPK - *AMP-activated protein kinase*; TFAM - *mitochondrial transcription factor A*; FNDC5 - *fibronectin type III domain containing protein 5*) através da técnica de Western Blot.

Western Blot

Para extração de proteína, as amostras do músculo esquelético *Tibialis anterior* (~0,02g) foram homogeneizadas com Polytron® (PT10-35GT) e colocadas em 0,6 mL de solução RIPA (Radio Immunoprecipitation Assay) contendo TRIS-HCl (50mM, pH 7,4), EDTA (1mM), SDS (0,2%), DOC (0,2%), Triton X-100 (1%) e cocktail de inibidores de protease e fosfatase (1:100, *Sigma-Aldrich*, #P8340) (Monteiro et al., 2008). Posteriormente, foram sonicadas durante 15 minutos a 4°C, centrifugadas a 13000xg durante 10 minutos a 4°C, aproveitando o sobrenadante. A concentração de proteína foi determinada pelo método BCA (Biocinchoninic Acid Assay), utilizando o soro de albumina de boi (BSA, do inglês *bovine serum albumin*) como padrão (Bradford, 1976).

As amostras foram solubilizadas em solução *loading*, contendo *Laemmli* e β -mercaptoetanol, e fervidas a 97°C durante 5 minutos. As proteínas foram separadas eletroforéticamente em gel SDS-poliacrilamida, de acordo com o método descrito por Laemmli (1970). Posteriormente, as proteínas foram transferidas para uma membrana de nitrocelulose (Milipore, EUA). Após a transferência, as membranas foram coradas com *Ponceau S*, lavadas com água destilada, e posteriormente bloqueadas com 5% de BSA, ou leite magro em pó em TBS-T (Tris-Buffered Saline, Tween20), durante duas horas à temperatura ambiente com agitação, de forma a reduzir a ligação não específica. As membranas foram lavadas 3 vezes (durante 5 minutos) e incubadas com um anticorpo primário específico para AMPK total (1:1000, #ab80039), TFAM (1:1000, #SC-23588), PGC1- α (1:750, #Ab106814) e FNDC5 (1:1000, #ab174833) durante a noite, a 4°C. No dia seguinte, as membranas foram expostas ao substrato enzimático (ECL, GE Health Care) durante 5 minutos e, finalmente, reveladas no sistema ChemiDoc XRS (Bio-Rad, EUA). As imagens foram gravadas e analisadas utilizando o programa Image Lab versão 3.0 (Bio-Rad, EUA).

Procedimentos estatísticos

Para a análise dos dados recolhidos recorreu-se ao programa GraphPad Prism 6.0 (GraphPad software, EUA).

A média e erro padrão da média foram calculados para todas as variáveis de cada grupo. O significado estatístico foi determinado pelo teste *t*. O nível de significância foi estabelecido em 5%.

RESULTADOS

Relativamente ao ganho de peso dos animais durante a gravidez, podemos verificar através da tabela 1 que o grupo GS apresentou um valor médio superior ao do grupo GE, registando-se diferenças estatisticamente significativas entre os dois grupos.

Tabela 1: Ganho de peso dos animais durante a gravidez (g).

	Grávidas Sedentárias	Grávidas Exercitadas
Média	163,8	122,8*
Erro padrão médio	12,57	3,664

*: vs. Grávidas Sedentárias

A tabela 2 evidencia o número médio de animais da ninhada obtida pelas mães dos grupos GS e GE, não se observando diferenças estatisticamente significativas entre os grupos.

Tabela 2: Número de animais da ninhada nos dois grupos em estudo.

	Grávidas Sedentárias	Grávidas Exercitadas
Média	15,8	14,83
Erro padrão médio	0,8602	0,5426

Relativamente ao peso da descendência à nascença dos grupos em estudo, podemos verificar na tabela 3 que os animais do grupo GE apresentaram um peso significativamente inferior comparativamente à descendência do grupo GS ($p < 0,05$).

Tabela 3: Peso à nascença da descendência dos grupos em estudo (g).

		Descendência de Grávidas Sedentárias	Descendência de Grávidas Exercitadas
Machos	Média	80,7	71,7*
	Erro padrão médio	1	1,9

*: vs. Descendência de Grávidas Sedentárias

No que respeita à análise de parâmetros musculares da descendência dos grupos em estudo, pesou-se o músculo *Tibialis anterior* (tabela 4). No que diz respeito a este parâmetro, os animais descendentes do grupo GS apresentaram valores de peso para o músculo *Tibialis anterior* de $1,62 \pm 0,21$ g, enquanto que os seus equivalentes do grupo GE apresentou em peso de $1,54 \pm 0,12$ g. Estes resultados não evidenciaram, no entanto, diferenças estatisticamente significativas entre os grupos (tabela 4).

Tabela 4: Peso do *Tibialis anterior* da descendência (g).

		Descendência de	Descendência de
		Grávidas Sedentárias	Grávidas Exercitadas
Machos	Média	1,62	1,54
	Erro padrão médio	0,214	0,125

Na tabela 5 apresentam-se valores relativos ao *Maximal Workload Test* (MWT) realizado pelos animais dos dois grupos em tapete rolante. Como se pode verificar, os animais da descendência do grupo sedentário alcançaram, em média, uma velocidade máxima de $48,50 \pm 8,56 \text{ cm.s}^{-1}$, enquanto os animais da descendência do grupo exercitado alcançaram uma velocidade de corrida significativamente mais elevada ($56,75 \pm 6,98 \text{ cm.s}^{-1}$).

Tabela 5: *Maximal Workload Test* (MWT).

- Velocidade de corrida obtida no final do teste (cm.s^{-1})

		Descendência de	Descendência de
		Grávidas Sedentárias	Grávidas Exercitadas
Machos	Média	48,50	56,75*
	Erro padrão médio	8,56	6,98

*: vs. Descendência de Grávidas Sedentárias

Ainda relativamente ao teste anteriormente referido (MWT), podemos observar na tabela 6 o tempo até à exaustão em exercício. Verifica-se que a os animais da descendência do grupo GE realizaram um tempo médio de exercício até à exaustão significativamente ($p < 0,05$) superior aos animais da descendência do grupo GS ($21,29 \pm 4,34 \text{ min}$).

Tabela 6: Tempo até à exaustão no *Maximal Workload Test* (minutos).

		Descendência de	Descendência de
		Grávidas Sedentárias	Grávidas Exercitadas
Machos	Média	16,23	21,29*
	Erro padrão médio	4,85	4,34

*: vs. Descendência de Grávidas Sedentárias

Como se pode verificar na tabela 7, no que respeita às avaliações das concentrações sanguíneas de lactato obtidas no final do MWT, foram encontrados valores médios semelhantes entre os dois grupos (descendência GS=6,06 ± 1,87 mmol.L-1 e descendência GE=6,11 ± 1,48 mmol.L-1).

Tabela 7: Concentrações sanguíneas de lactato obtidas no final do MWT (mmol.L-1).

		Descendência de	Descendência de
		Grávidas Sedentárias	Grávidas Exercitadas
Machos	Média	6,06	6,11
	Erro padrão médio	1,87	1,48

A exemplo do parâmetro anterior, a tabela 8 evidencia a variação das concentrações sanguíneas de glicose obtida entre a condição basal e o final do MWT. Como se pode evidenciar na tabela, nos animais da descendência do grupo GS observou-se um valor de variação médio negativo (-0,31 ± 19,46 %), enquanto nos da descendência do grupo GE se verificou um valor médio positivo (4,10 ± 14,33 %). No entanto, as diferenças não se revelaram estatisticamente significativas.

Tabela 8: Variação das concentrações sanguíneas de glicose entre o início e o final do MWT (%).

		Descendência de	Descendência de
		Grávidas Sedentárias	Grávidas Exercitadas
Machos	Média	-0,31	4,10
	Erro padrão médio	19,46	14,33

Tendo em conta a relevância fisiológica da análise proteômica no fenótipo muscular, os gráficos seguintes (1, 2, 3 e 4) dizem respeito ao conteúdo de diferentes proteínas no músculo *Tibialis anterior* dos animais dos dois grupos (GS e GE) obtido através da técnica de Western Blot.

A tabela 9 evidencia os valores do conteúdo muscular de AMPk nos grupos em análise. Como se pode verificar, a expressão desta proteína é superior na descendência de grávidas exercitadas ($145,72 \pm 23,07$ %) comparativamente à descendência de grávidas sedentárias ($96,67 \pm 19,89$ %), sendo a diferença entre os dois grupos estatisticamente significativa.

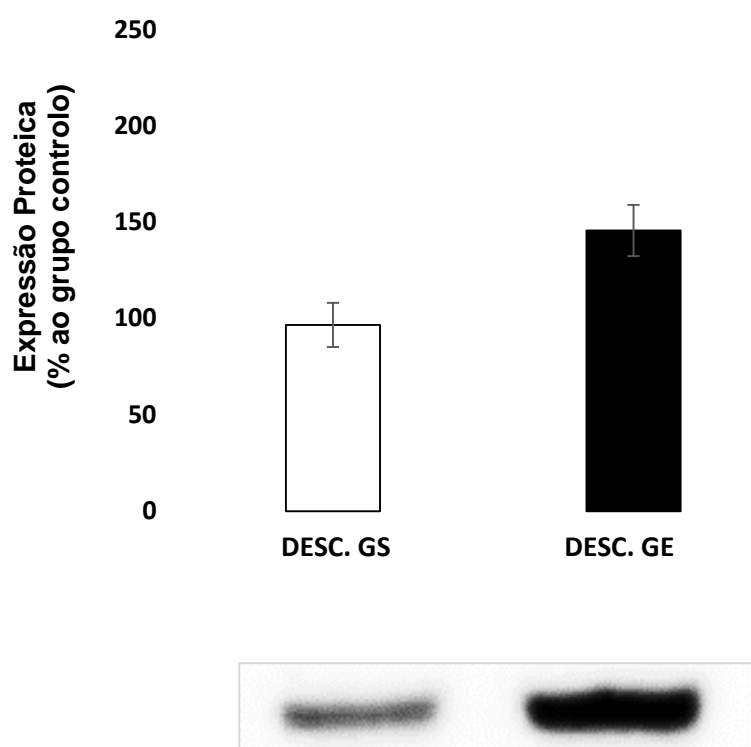
Tabela 9: Conteúdo muscular de AMPk obtido por Western Blot (%).

		Descendência de	Descendência de
		Grávidas Sedentárias	Grávidas Exercitadas
Machos	Média	96,67	145,72*
	Erro padrão médio	19,89	23,07

*: vs. Descendência de Grávidas Sedentárias

O gráfico 4 reflete a expressão proteica de AMPk a nível muscular dos animais da descendência do grupo de grávidas exercitadas comparativamente aos do grupo de grávidas não exercitadas. A exemplo dos gráficos anteriores, a intensidade das bandas reflete um exemplo da expressão desta proteína nos animais de ambos os grupos em análise.

Gráfico 1: Conteúdo muscular de AMPk obtido por Western Blot (%).



A tabela 10 evidencia o conteúdo de PGC-1 α nos músculos dos animais de ambos os grupos. Como se pode perceber, os resultados obtidos na descendência das grávidas exercitadas (183,68 \pm 22,23 %) é superior comparativamente à descendência das grávidas sedentárias (93,33 \pm 32,70 %) e a diferença entre os dois grupos apresenta relevância estatisticamente significativa.

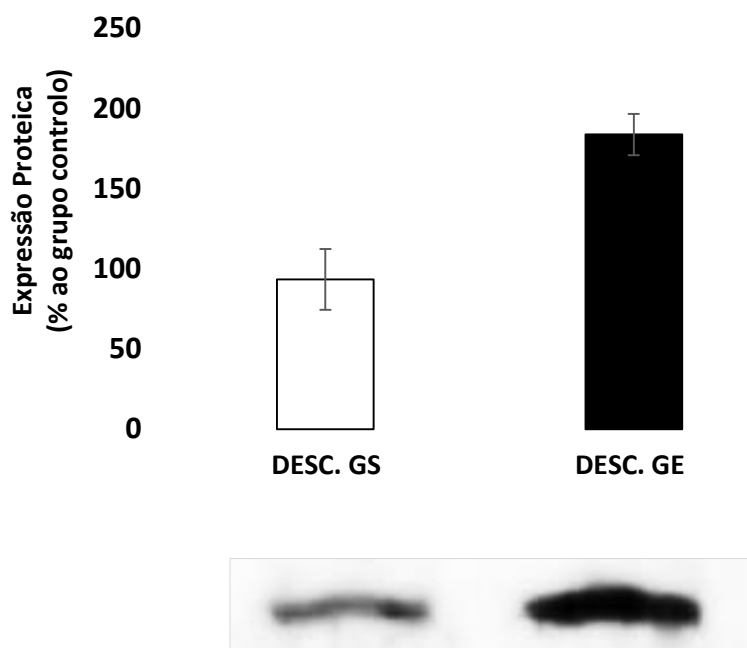
Tabela 10: Conteúdo muscular de PGC-1 α obtido por Western Blot (%).

		Descendência de	Descendência de
		Grávidas Sedentárias	Grávidas Exercitadas
Machos	Média	93,33	183,68*
	Erro padrão médio	32,70	22,23

*: vs. Descendência de Grávidas Sedentárias

O gráfico 2 reflete a expressão proteica de PGC-1 α observada nos animais da descendência do grupo exercitado comparativamente aos do grupo não exercitado. É também possível verificar a intensidade das bandas obtidas através da técnica de Western Blot.

Gráfico 2: Conteúdo muscular de PGC-1 α obtido por Western Blot (%).



A tabela 11 mostra os valores da expressão de TFAM a nível muscular. Como se pode verificar, o conteúdo desta proteína é superior nos animais da descendência de grávidas exercitadas (132,80 \pm 18,58 %) comparativamente à descendência de grávidas sedentárias (93,33 \pm 14,50 %), sendo a diferença entre os dois grupos estatisticamente significativa.

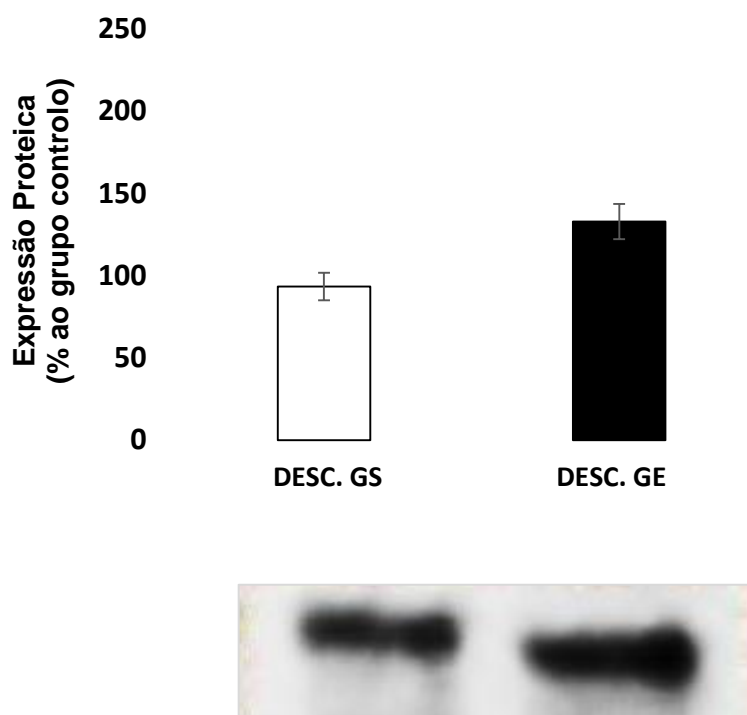
Tabela 11: Conteúdo muscular de TFAM obtido por Western Blot (%).

		Descendência de Grávidas Sedentárias	Descendência de Grávidas Exercitadas
Machos	Média	93,33	132,80*
	Erro padrão médio	14,50	18,58

*: vs. Descendência de Grávidas Sedentárias

O gráfico 2 reflete a expressão proteica de TFAM na descendência do grupo exercitado comparativamente à do grupo não exercitado. A exemplo do gráfico anterior, é possível observar um exemplo da intensidade das bandas relativas à expressão desta proteína.

Gráfico 3: Conteúdo muscular de TFAM obtido por Western Blot (%).



A tabela 12 apresenta os valores correspondentes ao conteúdo de FNDC5 obtidos nos dois grupos a nível muscular. Como se pode verificar, a expressão desta proteína é superior nos animais da descendência de grávidas

exercitadas ($132,70 \pm 16,98$ %) comparativamente à obtida nos animais da descendência de grávidas sedentárias ($100,00 \pm 8,70$ %), sendo a diferença entre os dois grupos estatisticamente significativa.

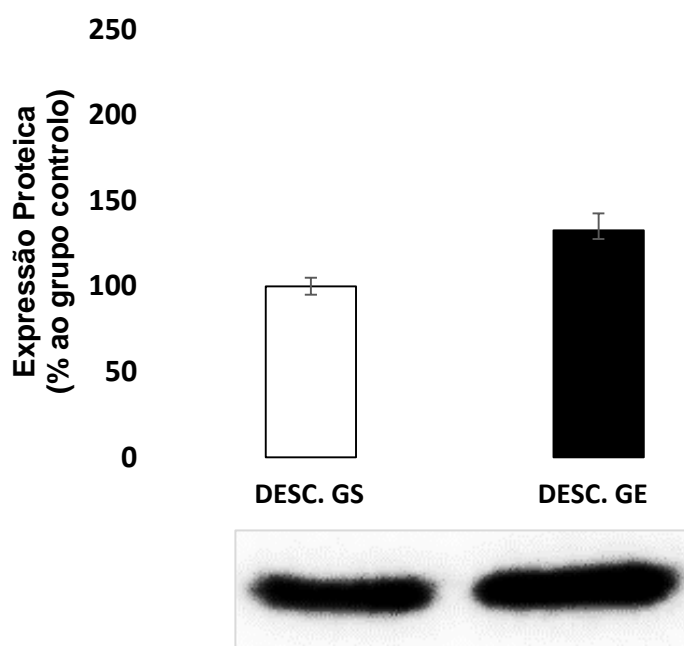
Tabela 12: Conteúdo muscular de FNDC5 obtido por Western Blot (%).

		Descendência de Grávidas Sedentárias	Descendência de Grávidas Exercitadas
Machos	Média	100,00	132,70*
	Erro padrão médio	8,70	16,98

*: vs. Descendência de Grávidas Sedentárias

O gráfico 4 reflete a expressão proteica de FNDC5 a nível muscular dos animais da descendência do grupo exercitado comparativamente aos do grupo não exercitado. A intensidade das bandas exprime um exemplo do conteúdo muscular desta proteína nos dois grupos em análise.

Gráfico 4: Conteúdo muscular de FNDC5 obtido por Western Blot (%).



DISCUSSÃO

É unanimemente consensual na literatura científica que a prática regular de exercício físico está associada a melhorias significativas da condição física e da saúde em geral, mesmo em mulheres no período associado à gravidez. De facto, o exercício físico é um estímulo que afeta de forma positiva e pleiotrópica a funcionalidade de um conjunto significativo de sistemas e órgãos no nosso corpo do praticante e, além disso, tem sido sugerido como passível de propiciar a ocorrência de modificações transgeracionais (Guth et al., 2013). Assim sendo, tendo por base o potencial desta "aptidão" transgeracional dos benefícios fisiológicos e bioquímicos do exercício físico, torna-se importante clarificar os efeitos decorrentes da própria prática de exercício físico durante o período gestacional para a mãe e para a sua descendência. Na realidade, em muitos casos e em diferentes contextos, nomeadamente no desporto de alto rendimento, as atletas mantêm, muitas vezes, as cargas de treino até fases muito avançadas do período gestacional.

Neste sentido, o nosso trabalho, realizado no modelo animal, assumiu como objetivo geral compreender o impacto do treino desportivo realizado durante o período de gravidez na modulação do fenótipo de performance dos animais da descendência, através da análise de parâmetros gerais de progenitura e da avaliação morfométrica e de características proteómicas do fenótipo muscular esquelético da respetiva descendência.

Para o efeito, a nossa amostra inicial foi constituída por 16 ratos *Sprague-Dawley* fêmeas com 5 semanas de idade, distribuídos equitativa e aleatoriamente por dois grupos: grávidas sedentárias e grávidas exercitadas, sendo estas submetidas a um programa de exercício após a confirmação de início da gestação. Relativamente à descendência, a amostra foi constituída por 8 animais de cada um dos respetivos grupos. Optámos pela utilização de ratos, uma vez que este animal é considerado um modelo adequado que, quando sujeito a determinados estímulos fisiológicos, nomeadamente a prática de exercício físico, se adapta de forma semelhante mimetizando, por isso,

alterações fenotípicas, estruturais, bioquímicas e funcionais observadas no humano (Monti et al., 1995). Para além disso, possui uma longevidade relativamente curta e, conseqüentemente, um período gestacional de pequena duração (cerca de 20 dias) o que facilita a exequibilidade da análise de diferentes parâmetros em estudos transgeracionais. Por razões que extravasam o alcance desta dissertação de 2º Ciclo em particular, utilizámos a estirpe *Sprague-Dawley* por ser sugerida na literatura científica como particularmente adequada para a indução de condições de obesidade e de patologias a nível hepático através da ingestão de dietas hipercalóricas e ricas em gordura (Gonçalves et al., 2014). Esta condição revela-se importante numa perspetiva mais ampla do projeto em que se enquadrou este trabalho e que visa uma interpretação vasta e detalhada do impacto negativo destes estímulos nutricionais e, em oposição, da capacidade do exercício físico, nomeadamente o praticado durante a gravidez, em mitigar os efeitos deletérios associados a estas condições no modelo animal e na sua descendência.

Trabalhos recentes sugerem inúmeros efeitos positivos relacionados com a prática de exercício físico em mulheres durante o período de gravidez, dos quais se destacam o controlo mais assertivo do peso e predisposição para desenvolver condições exacerbadas de obesidade. Os dados do presente estudo vão de encontro aos resultados obtidos em humanos e consagram o papel do exercício físico, realizado durante este período particular da vida da mulher, como extremamente relevante para harmonizar e equilibrar as variações abruptas entre as necessidades e o dispêndio energético numa condição de gestação, isto é, na capacidade de proporcionar a manutenção de um peso corporal adequado à condição sem comprometer outros parâmetros relacionados com a saúde, como sejam por exemplo a obesidade ou a diabetes gestacional que não só afetam a própria grávida mas também a saúde da sua descendência. Efetivamente, verificamos no nosso trabalho diferenças estatisticamente significativas, entre as grávidas exercitadas e as não exercitadas (GS: 163,8g ± 12,57g; GE: 122,8g ± 3,664g), no que respeita ao ganho de peso ao longo da gravidez.

Por seu lado, no âmbito dos trabalhos realizados com animais, o número da ninhada é também um parâmetro avaliado em vários estudos. Por exemplo,

Pereira e colaboradores (2015), num estudo desenvolvido em ratos fêmeas com diabetes gestacional induzido por dieta hipercalórica, verificaram que mães exercitadas apresentavam ninhadas mais pequenas do que as obtidas no nosso trabalho (13 ± 1). No nosso estudo obtivemos valores semelhantes para o número da ninhada entre grupos (GS: $15,8 \pm 0,8602$; GE: $14,83 \pm 0,5426$), não revelando diferenças estatisticamente significativas, o que nos coloca em linha com o demonstrado por Carter e colaboradores (2013). Neste trabalho, os autores referiram não existir diferenças significativas no número da ninhada entre mães sedentárias (13.9 ± 0.39) e mães exercitadas (14.61 ± 0.59). Da mesma forma, Cunningham e colaboradores (2018), num estudo onde investigaram se a atividade física realizada pela mãe atenuaria a esteatose maternal induzida por dieta ocidental em ratos adultos jovens da sua descendência, também referem não existir diferenças no tamanho da ninhada entre grupos. Assim sendo, de uma forma geral os resultados parecem ser consensuais em sugerir que não existe qualquer relação entre a prática de exercício físico durante a gravidez e o número da ninhada, ou seja, a prática de exercício físico realizado no período gestacional não afeta ou condiciona de forma negativa a disponibilidade metabólica das mães em desenvolverem os fetos de forma adequada. Estas indicações são obviamente favoráveis e abonatórias à manutenção de prática desportiva realizada de forma crónica, por exemplo no contexto do treino desportivo, por atletas em período gestacional, desde que outros cuidados enumerados anteriormente nesta dissertação, sejam considerados de forma adequada.

Relativamente a parâmetros morfométricos, o presente estudo avaliou o peso à nascença da descendência, assim como o peso do músculo *Tibialis anterior* dos mesmos.

No que respeita ao peso à nascença da descendência, o nosso estudo revelou diferenças estatisticamente significativas entre o grupo de descendentes de GS ($80,7g \pm 1g$) e o grupo de descendentes de GE ($71,7g \pm 1,9g$). Hopkins e colaboradores (2010), determinaram os efeitos do treino aeróbio realizado durante a segunda metade da gravidez na sensibilidade à insulina materna, tendo verificado nos resultados neonatais um menor peso de filhos de mães exercitadas à nascença. Do mesmo modo, num estudo de 2015,

Raipuria e colaboradores examinaram o impacto do exercício voluntário durante a gravidez na homeostasia de lípidos e glicose no músculo e na acumulação de tecido adiposo visceral nos filhos de mães magras e obesas, apurando que filhos de mães exercitadas, quer machos quer fêmeas, eram significativamente mais leves, isto é, que o exercício voluntário realizado durante a gravidez se associou a um menor peso à nascença dos filhos de mães exercitadas.

O músculo esquelético representa aproximadamente 40% da nossa massa corporal total e exerce um papel primordial no metabolismo da glicose (Smith & Muscat, 2005). Este tecido é responsável por cerca de 30% do consumo energético, além de ser um dos principais tecidos responsáveis pela captação, liberação e armazenamento de glicose (Nuutila et al., 1992). Os trabalhos realizados nas últimas décadas têm demonstrado que o exercício físico aumenta a captação de glicose pelo músculo esquelético, inclusivamente por vias independentes da insulina (James et al., 1983; Eriksson et al., 1998; Kennedy et al., 1999; Luciano et al., 2002). Em consonância com esta valência metabólica do músculo esquelético, foi ainda demonstrado por Knoemler e seus colaboradores (2002) que a redução do peso corporal (nomeadamente de massa gorda) associada ao aumento da prática de exercício físico em indivíduos com risco aumentado para desenvolver diabetes reduz em 58% a incidência dessa doença.

Num único estudo encontrado (Raipuria et al., 2015), observou-se que o exercício voluntário de mães obesas durante a gravidez melhorou a homeostasia da glicose na descendência em repouso, com diminuição da glicose plasmática. Este estudo demonstrou que, nos descendentes machos, o exercício realizado pelas mães durante o período de gestação foi capaz de diminuir o risco metabólico conferido pela obesidade materna, melhorando o metabolismo da insulina e da glicose. Apesar de não apresentados no contexto deste trabalho em particular, os níveis de glicemia basal são também mais baixos no grupo de descendência GE, comparativamente aos GS o que auspícia melhorias importantes no metabolismo da glicose com implicações benéficas do ponto de vista da saúde.

Os valores encontrados no nosso estudo, relativamente à variação da concentração de glicose sanguínea entre o início e o final do MWT realizado pelos animais das respetivas descendências (Descendência GS: $-0,31 \pm 19,46$ %; Descendência GE: $4,10 \pm 14,33$ %), podem ser explicados por três, eventuais, justificações. Por um lado, uma maior capacidade de exportação de glicose do fígado para o sangue no grupo dos animais descendentes de GE e, conseqüentemente, uma maior capacidade de utilização deste substrato energético, a nível muscular, nas fases do teste de intensidade mais elevada. Por outro lado, uma menor resposta insulinémica por partes dos animais do grupo GE, como mecanismos de adaptação ao treino (Mikines et al., 1989), nomeadamente à capacidade do músculo em captar glicose por vias independentes da insulina (Messina et al., 2015). Finalmente, este facto, pode também ser explicado por uma maior participação do metabolismo glicolítico em sedentários e uma maior participação do metabolismo oxidativo, particularmente com recurso a ácidos gordos) nos animais de mães exercitadas, para uma mesma intensidade de exercício. Este facto, acarretaria uma menor dependência das reservas de glicogénio muscular assegurando que mais glicogénio se mantém disponível para intensidades mais elevadas de exercício e, conseqüentemente, uma menor necessidade de captação de glicose para o tecido garantindo até mais tardiamente a estabilidade da disponibilidade de glicose sanguínea (Hearris et al., 2018) (um conceito conhecido na língua inglesa como “muscle-glycogen sparing effect”).

Por várias razões que envolvem, como exemplo, o fenómeno de biogénese mitocondrial, sabe-se que a contração muscular é eficiente em causar melhorias na aptidão celular de oxidação de gorduras e aumentar a sensibilidade tecidual à insulina. Nesse sentido, estudos recentes realizados a nível molecular têm trazido novos conhecimentos a respeito dos efeitos do exercício físico na captação de glicose em diferentes tecidos, nomeadamente no tecido muscular esquelético (Hearris et al., 2018). A partir de uma miríade de proteínas que têm sido descritas como estando envolvidas nestes mecanismos, uma das proteínas intracelulares que tem sido, particularmente, estudada como desempenhando um papel central na homeostase energética

celular e, inclusivamente, papel determinante na estimulação da biogénese mitocondrial é a AMPk.

Efetivamente, diversas situações de stress, como o exercício, as condições locais ou sistémicas de hipoxia ou o jejum prolongado proporcionando um aumento intracelular da razão AMP/ATP podem ativar a expressão génica de AMPk e, conseqüentemente, o aumento do seu conteúdo a nível tecidual (Pauli et al., 2009). O exercício físico intenso, que é considerado um dos exemplos de stress metabólico mais extremos experimentado pelos seres humanos, leva à ativação da AMPk no músculo esquelético (Chen et al., 1999; Fujii et al., 2005; Wojtaszewski et al., 2002) e em roedores pelo menos no tecido adiposo intra-abdominal e fígado (Coven et al., 2003; Park et al., 2002).

No que diz respeito às suas implicações no âmbito do exercício físico, entre outros, a AMPk exerce um papel particularmente importante na regulação do transporte de glicose durante a contração muscular (Ai et al., 2002; Vavvas et al., 1997). Complementarmente, também possui efeitos positivos na melhoria da sensibilidade tecidual à insulina (Mikines et al., 1988; Richter et al., 1982; Richter et al., 1989) e na expressão de genes e proteínas em vários tecidos (Hojlund & Coyle, 1984; Park et al., 2002; Pilegaard et al., 2000; Vissing et al., 2008), associando-se a sua expressão aumentada a uma redução da morbidade e mortalidade numa população ativa (Blair et al., 1995).

Por outro lado, a inatividade física é reconhecida como um poderoso fator de risco para o aumento da prevalência de um conjunto significativo de patologias. Supõe-se que muitos dos efeitos benéficos do exercício e os efeitos adversos da inatividade física estejam relacionados, respetivamente, com a ativação ou a falta de ativação da AMPk. Do ponto de vista bioquímico, o exercício pode ser usado como modelo para estudar os mecanismos pelos quais a AMPk é ativada no músculo esquelético e em outros tecidos e como ferramenta para desvendar os seus papéis fisiológicos *in vivo* (Richter & Ruderman, 2009).

Sendo a AMPk uma proteína que se relaciona diretamente com o exercício, no âmbito do presente estudo analisamos a variação de AMPk na

descendência de GS e de GE. Os resultados encontrados revelaram diferenças estatisticamente significativas (Descendência GS: 96,67% ± 19,89%; Descendência GE: 145,72% ± 23,07%).

A AMPk ativada exerce uma função estimuladora de genes envolvidos no transporte celular de glicose, nomeadamente de GLUT-4 a nível muscular, e sua utilização, assim como na regulação da oxidação lipídica. Estes processos ocorrem devido ao efeito desta enzima sobre os efetores transcricionais, principalmente o PGC-1 α . O PGC-1 α é considerado um regulador central da expressão genética mitocondrial, sendo que um dos mecanismos de fosforilação de PGC-1 α envolve a enzima AMPk. Por esta razão, foi recentemente sugerido que o mecanismo de “feedback” positivo entre a AMPk e o PGC-1 α regulado pelo “treino de endurance” parece ser responsável pela mediação das adaptações positivas à expressão de GLUT-4 no músculo esquelético (Koh et al., 2019). Assim sendo, parece espectável que a descendência do grupo de mães treinadas, comparativamente às sedentárias, apresente um fenótipo mais favorável à regulação metabólica celular com implicações positivas na regulação bioenergética.

O PGC-1 α pertence à família dos factores de transcrição nucleares que desempenham um papel central na regulação do metabolismo celular (Liang & Ward, 2006). O PGC-1 α estimula a biogénese mitocondrial e promove a remodelação do tecido muscular, entre outros, proporcionando um fenótipo metabolicamente mais oxidativo e menos glicolítico, com consequências muito relevantes na bioenergética celular e, por inerência, na regulação do metabolismo dos carboidratos e dos lípidos (Liang & Ward, 2006). Por esta razão, diversos estudos têm reafirmado o papel extremamente relevante da expressão e do conteúdo de PGC-1 α como fator etiológico central de inúmeras patologias, como sejam a obesidade, a diabetes, a esteatose hepática não alcoólica, algumas cardiopatias ou, ainda, diversos tipos de doenças neurodegenerativas (Chandrasekarana et al., 2019; Cheng et al., 2018; Sue et al., 2015; Mello et al., 2016). No sentido oposto, o aumento da expressão e do conteúdo desta proteína é considerado um “marco” metabólico incontornável da capacidade que o exercício físico tem de prevenir e mesmo mitigar os

efeitos deletérios associados a um elevado número de patologias (Beleza et al., 2018).

Assim sendo, tendo consciência da importância deste co-ativador na regulação do metabolismo celular, analisámos, no nosso estudo, a variação do conteúdo de PGC-1 α na descendência de GS e de GE. Os resultados encontrados revelaram diferenças estatisticamente significativas no conteúdo muscular desta proteína (Descendência GS: 93,33% \pm 14,50%; Descendência GE: 132,80% \pm 18,58%), o que reforça a capacidade e relevância do efeito transgeracional do exercício durante o período de gestação.

No trabalho realizado por Raipuria e seus colaboradores (2015), a expressão de PGC-1 α também foi aumentada pelo exercício materno, sugerindo que a prática regular de exercício físico no período de gestação tem um efeito transgeracional e de programação biológica determinante e que parece modificar o fenótipo do metabolismo celular. Efetivamente, o programa de treino prolongado a que foram submetidos os animais em gestação motivou aumentos na expressão do mRNA de PGC-1 α no tecido adiposo branco, aumentando a capacidade oxidativa e, por inerência, limitando o acúmulo de gordura no tecido adiposo visceral e afetando, de forma significativamente positiva, a homeostasia e metabolismo da glicose no tecido muscular esquelético.

Na verdade, a biogénese mitocondrial decorrente do envolvimento regular em programas de treino, inclusivamente durante a gestação, é um processo extremamente complexo que se expressa pela capacidade das células para adaptarem a população mitocondrial às exigências bioenergéticas (Scarpulla, 2011). Assim sendo, decorrente do estímulo para a expressão aumentada de PGC-1 α a nível nuclear, por exemplo por aumento da expressão de AMPK, a sua translocação para a mitocôndria promove um aumento da síntese do fator de transcrição mitocondrial A (TFAM) a partir do DNA mitocondrial (mtDNA), o qual desempenha várias funções, entre as quais a regulação da biogénese mitocondrial (Picca & Lezza, 2015). Sendo o TFAM um indutor de biogénese mitocondrial, analisamos também a sua variação na descendência de GS e de GE. Dada a sua relevância no controlo metabólico

da biogénese mitocondrial, a lógica expectável do aumento da expressão de PGC-1 α , refletiu-se nos resultados encontrados para a expressão deste importante factor de transcrição mitocondrial. Na verdade, diferenças estatisticamente significativas, na expressão desta proteína foram, igualmente, encontradas no presente estudo (Descendência GS: 93,33% \pm 14,50%; Descendência GE: 132,80% \pm 18,58%).

Parecem não existir dúvidas quanto à eficácia do exercício físico na melhoria da composição corporal e da saúde metabólica. Contudo, os mecanismos subjacentes aos seus benefícios clínicos ainda não são claros (Chen et al., 2016; Yang et al., 2015). Como referimos anteriormente, alguns dos efeitos mais reconhecidos dos programas de treino no músculo esquelético são mediados pelo aumento da expressão de PGC-1 α , sendo que, por outro lado, este estimula a expressão de FNDC5 a nível muscular. Decorrente de alguns tipos de estímulo, nomeadamente da realização de exercício físico, esta mioquina parece sofrer uma clivagem proteolítica, libertando para a corrente sanguínea um pequeno fragmento proteico reconhecido como irisina (Bostrom et al., 2012). A irisina tem uma função do “tipo hormonal” ligando-se por isso a recetores específicos na superfície das células do tecido adiposo e estimulando o seu “beiging/browning” por aumento da expressão da proteína UCP-1 e, conseqüentemente, a termogénese em roedores, (Bostrom et al., 2012). Desta forma, a irisina pode converter o tecido adiposo branco em “tecido adiposo bege/castanho”, que está associado a efeitos positivos na saúde, tais como controlo de massa gorda, tolerância à glicose e melhoria da resistência à insulina, prevenção de perda de massa muscular e redução da inflamação sistémica (Bostrom et al., 2012; Tsuchiya et al., 2015; Nygaard et al., 2015).

Sabendo a importante relação que existe entre a expressão da proteína FNDC5 e a prática regular de exercício físico (Rocha-Rodrigues et al., 2016), no nosso trabalho analisamos a sua variação na descendência de GS e de GE. Os resultados encontrados revelaram, também, diferenças estatisticamente significativas (Descendência GS: 100,00% \pm 8,70%; Descendência GE: 132,70% \pm 16,98%). Tendo em conta as implicações metabólicas que decorrem do aumento da expressão desta proteína no tecido adiposo, da descendência de animais treinados durante o período gestacional,

estes dados reforçam a contribuição transgeracional de um fenótipo positivo decorrente da prática de programas de treino, devidamente ajustados, durante o período de gravidez.

Do nosso conhecimento, não existem estudos que tenham analisado o impacto destas condições específicas de programas de treino na expressão da performance da descendência em “*Maximal Workload Test*”, nomeadamente no respetivo tempo até à exaustão ou no valor de lactato obtido no final deste teste de performance máxima.

Os resultados encontrados neste trabalho indicam que a descendência GE obteve uma melhor performance máxima no MWT, expressa pela velocidade máxima mais elevada ($56,75 \pm 6,98 \text{ cm.s}^{-1}$) atingida no teste e consequentemente pelo tempo médio de exercício realizado até à exaustão ($t = 21,29 \pm 4,34 \text{ min}$), valores que representam diferenças estatisticamente significativas entre os dois grupos. Para além destes dois indicadores de performance, verificou-se ainda valores inferiores de lactato no final do MWT para o grupo da descendência GE ($6,11 \pm 1,48 \text{ mmol.L}^{-1}$).

A melhoria do metabolismo energético, expresso, entre outros, pela expressão aumentada de determinadas proteínas estudadas no presente trabalho, pode explicar as diferenças verificadas entre grupos. Efetivamente, o treino de endurance, mesmo realizado durante o período de gestação, parece causar alterações significativas do fenótipo bioquímico e estrutural dos músculos em sujeitos ao estímulo do exercício. Como fomos referindo anteriormente, alterações como o aumento do número e densidade mitocondriais e da densidade capilar (Holloszy & Coyle, 1984) parecem suportar uma maior capacidade e apetência do metabolismo oxidativo em dar resposta favorável às exigências metabólicas dum teste desta natureza. O aumento do número de mitocôndrias tem óbvias implicações no aumento da atividade das enzimas envolvidas no metabolismo oxidativo: ciclo de Krebs, β -oxidação e cadeia transportadora de eletrões com repercussões positivas na performance máxima. Alterações positivas na atividade e no conteúdo dos *shuttles*, utilizados para transportar NADH e piruvato do citoplasma para as

mitocôndrias parecem contribuir ou explicar, pelo menos em parte, os menores valores de lactato obtidos.

CONCLUSÕES

De uma forma geral, tendo em consideração os resultados obtidos no presente trabalho, podemos concluir que o treino desportivo realizado durante o período de gestação, contrariamente ao sugerido por alguns preconceitos pré-estabelecidos, parece acarretar implicações positivas do ponto de vista da performance e de parâmetros relacionados com o metabolismo muscular no fenótipo da descendência de mulheres atletas.

Não existem dúvidas quanto às melhorias significativas da condição física e da saúde em geral associadas à prática regular de exercício físico. Isso tem pressionado as entidades governamentais no sentido de criarem diretrizes e condições para a sua prática. Nesse sentido, muitas autarquias têm investido fortemente na implementação de atividades desportivas realizadas em moldes diferenciados e ao dispor da comunidade em diversos contextos. De facto, parece cada vez mais consensual que ser-se fisicamente ativo é uma das estratégias não farmacológicas mais importantes que contribuem, de forma preventiva e terapêutica, para uma melhoria indiscutível dos índices de saúde da população.

Ao longo dos anos, a ciência tem dado provas dos benefícios da prática regular de exercício físico. No entanto, só na última década é que têm surgido mais estudos centrados no contexto da prática de exercício físico durante a gravidez. Efectivamente, “afrontando” um conjunto de preconceitos socialmente estabelecidos, face a este período especial na vida de uma mulher, os estudos têm-se focado principalmente nas alterações verificadas na mulher e na sua descendência apenas em parâmetros morfológicos. Mais recentemente têm surgido estudos de cariz molecular que tentam estudar de forma mais detalhada o impacto do exercício físico na descendência de mães fisicamente ativas comparativamente a mães sedentárias. Para além de parâmetros relacionados com o metabolismo celular, o nosso estudo contribuiu para um

conhecimento mais particular, no âmbito da performance desportiva neste contexto particular da vida da mulher atleta..

Futuros estudos deverão ser realizados com o intuito de se compreender se os parâmetros avaliados na descendência à nascença e/ou com poucas semanas de vida se mantêm ao longo do tempo ou se, por outro lado, alterações induzidas pelo sedentarismo ou por uma vida ativa mitigam ou “amplificam” a expressão fenotípica positiva alcançada com o treino das mães no período de gestação. Naturalmente que em função da miríade de possibilidades, formas e contextos, que decorrem da prática de exercício no âmbito do treino desportivo, seria, também, interessante compreender o impacto de diferentes métodos de treino, assim como avaliar outros parâmetros relacionados diretamente com a performance.

CAPÍTULO IV – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amati, F., Hassounah, S., & Swaka, A. (2019). The impact of mediterranean dietary patterns during pregnancy on maternal and offspring health. *Nutrients*, *11*(5), 1098.
- Artal, R. (2015). The role of exercise in reducing the risks of gestational diabetes mellitus in obese women. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*, *29*(1), 123-132.
- Barker, D. J., & Osmond, C. (1987). Death rates from stroke in England and Wales predicted from past maternal mortality. *British Medical Journal*, *295*, 83-86.
- Biagi, C., Nunzio, M. D., Bordoni, A., Gori, D., & Lanari, M. (2019). Effect of adherence to mediterranean diet during pregnancy on children's health: a systematic review. *Nutrients*, *11*(5), 997.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, *72*, 248-254.
- Chandrasekaran, K., Anjaneyulu, M., Choi, J., Kumar, P., Salimian, M., Ho, C., & Russella, J. W. (2019). Role of mitochondria in diabetic peripheral neuropathy: Influencing the NAD⁺-dependent SIRT1–PGC-1 α –TFAM pathway. *International Review of Neurobiology*, *145*, 177-209.
- Cheng, C. F., Ku, H. C., & Lin, H. (2018). PGC-1 α as a pivotal factor in lipid and metabolic regulation. *International Journal of Molecular Sciences*, *19*(11), 3447.
- Clapp, J. F., & Capeless, E. (1991). The VO₂max of recreational athletes before and after pregnancy. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, *23*(10), 1128-1133.
- Cunningham, R. P., Moore, M. P., Meers, G. M., Ruegsegger, G. N., Booth, F. W., & Rector, R. S. (2018). Maternal physical activity and sex impact markers of hepatic mitochondrial health. *American College of Sports Medicine*, *50*(10), 2040-2048.
- Dye, T. D., Knox, K. L., Artal, R., Aubry, R. H., & Wojtowycz, M. A. (1997). Physical activity, obesity, and diabetes in pregnancy. *American Journal of Epidemiology*, *146*(11), 961-965.

- Elsakr, J. M., Dunn, J. C., Tennant, K., Zhao, S. K., Kroeten, K., Pasek, R. C., Takahashi, D. L., Dean, T. A., Edwards, D. R. V., McCurdy, C. E., Aagaard, K. M., Powers, A. C., Friedman, J. E., Kievit, P., & Gannon, M. (in press). Maternal Western-style diet affects offspring islet composition and function in a non-human primate model of maternal over-nutrition. *Molecular Metabolism*.
- Guth, L. M., Ludlow, A. T., Witkowski, S., Marshall, M. R., Lima, L. C. J., Venezia, A. C., Xiao, T., Lee, M.-L. T., Spangenburg, E. E., & Roth, S. M. (2013). Sex-specific effects of exercise ancestry on metabolic, morphological and gene expression phenotypes in multiple generations of mouse offspring. *Experimental Physiology*, *98*(10), 1469-1484.
- Harris, M. A., Hammond, K. M., Fell, J. M., & Morton, J. P. (2018). Regulation of muscle glycogen metabolism during exercise: Implications for endurance performance and training adaptations. *Nutrients*, *10*(3), 298.
- Herrera, E. (2002). Lipid metabolism in pregnancy and its consequences in the fetus and newborn. *Endocrine*, *19*, 43-55.
- Hinman, S. K., Smith, K. B., Quillen, D. M., & Smith, M. S. (2015). Exercise in pregnancy: a clinical review. *Sports Health*, *7*(6), 527-531.
- Holloszy, J. O., & Coyle, E. F. (1984). Adaptations of skeletal muscle to endurance exercise and their metabolic consequences. *Journal of Applied Physiology: respiratory, environmental and exercise physiology*, *56*(4), 831-838.
- Huang, Y., Ye, T., Liu, C., Fang, F., Chen, Y., & Dong, Y. (2017). Maternal high-fat diet during pregnancy and lactation affects hepatic lipid metabolism in early life of offspring rat. *Journal of Biosciences*, *42*(2), 311-319.
- Hytten, F., & Chamberlain, G. (1980). *Clinical physiology in obstetrics*. Oxford: Blackwell Scientific Publications.
- Kereliuk, S. M., Brawerman, G. M., & Dolinsky, V. W. (2017). Maternal macronutrient consumption and the developmental origins of metabolic disease in the offspring. *International Journal of Molecular Sciences*, *18*(7), 1451.
- King, J. C. (2000). Physiology of pregnancy and nutrient metabolism. *American Journal of Clinical Nutrition*, *71*, 1218-1225.

- Koh, J. H., Hancock, C. R., Han, D. H., Holloszy, J. O., Nair, K. S., & Dasari, S. (2019). AMPK and PPAR β positive feedback loop regulates endurance exercise training-mediated GLUT4 expression in skeletal muscle. *American Journal of Physiology, Endocrinology and Metabolism*, 316(5), 931-939.
- Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227(5259), 680-685.
- Lewis, E. (2014). Exercise in pregnancy. *Australian family physician*, 43(8), 541-542.
- Lotgering, F. K., Doorn, M. B. v., Struijk, P. C., Pool, J., & Wallenburg, H. C. (1991). Maximal aerobic exercise in pregnant women: heart rate, O₂ consumption, CO₂ production, and ventilation. *Journal of Applied Physiology*, 70(3), 1016-1023.
- McMillen, I. C., & Robinson, J. S. (2005). Developmental origins of the metabolic syndrome: prediction, plasticity, and programming. *Physiological Reviews*, 85, 571-633.
- Mello, T., Materozzi, M., & Galli, A. (2016). PPARs and mitochondrial metabolism: From NAFLD to HCC. *PPAR Research*, 2016, 18.
- Melzer, K., Schutz, Y., Boulvain, M., & Kayser, B. (2010). Physical activity and pregnancy: cardiovascular adaptations, recommendations and pregnancy. *Sports Medicine*, 40(6), 493-507.
- Messina, G., Palmieri, F., Monda, V., Messina, A., Dalia, C., Viggiano, A., Tafuri, D., Messina, A., Moscatelli, F., Valenzano, A., Cibelli, G., Chieffi, S., & Monda, M. (2015). Exercise causes muscle GLUT4 translocation in an insulin-independent manner [Versão eletrónica]. *Biology and Medicine*, disponível.
- Mikines, K. J., Sonne, B., Tronier, B., & Galbo, H. (1989). Effects of training and detraining on dose-response relationship between glucose and insulin secretion. *American Journal of Physiology*, 256(5), 588-596.
- Monteiro, R., Assunção, M., Andrade, J. P., Neves, D., Calhau, C., & Azevedo, I. (2008). Chronic green tea consumption decreases body mass, induces aromatase expression, and changes proliferation and apoptosis in adult male rat adipose tissue. *The Journal of Nutrition*, 138, 2156-2163.

- Musci, R. V., Hamilton, K. L., & Miller, B. F. (2018). Targeting mitochondrial function and proteostasis to mitigate dynapenia. *European Journal of Applied Physiology*, 118(1), 1-9.
- Nascimento, S. L., Surita, F. G., & Cecatti, J. G. (2012). Physical exercise during pregnancy: a systematic review. *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology*, 24(6), 387-394.
- Organização Mundial de Saúde. (2016). *Recomendações da OMS sobre cuidados pré-natais para uma experiência positiva na gravidez*. Genebra: Organização Mundial de Saúde.
- Padayachee, C., & Coombes, J. S. (2015). Exercise guidelines for gestational diabetes mellitus. *World Journal of Diabetes*, 6(8), 1033-1044.
- Panchenko, P. E. L., M., Fneich, S., Voisin, S., Jouin, M., Junien, C., & Gabory, A. (2015). Epigenetics and nutrition: maternal nutrition impacts on placental development and health of offspring. *Biologie Aujourd'hui*, 209(2), 175-187.
- Pasternak, Y., Aviram, A., Poraz, I., & Hod, M. (2012). Maternal nutrition and offspring's adulthood NCD's: a review. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*, 26(5), 439-444.
- Powers, S. K., & Howley, E. T. (2017). *Fisiologia do exercício: Teoria e aplicação ao condicionamento e ao desempenho* (9 ed.). Barueri: Manole.
- Rocha-Rodrigues, S., Rodríguez, A., Gouveia, A. M., Gonçalves, I., Becerril, S., Ramírez, B., Beleza, J., Frühbeck, G., Ascensão, A., & Magalhães, J. (2016). Effects of physical exercise on myokines expression and brown adipose-like phenotype modulation in rats fed a high-fat diet. *Life Sciences*, 165, 100-108.
- Rodríguez-Blanco, R., Sánchez-García, J. C., Sánchez-López, A. M., Mur-Villar, N., Fernández-Castillo, R., & Aguilar Cordero, M. J. (2017). Influence of physical exercise during pregnancy on newborn weight: a randomized clinical trial. *Nutricion Hospitalaria*, 34(4), 834-840.
- Sanghavi, M., & Rutherford, J. D. (2014). Cardiovascular physiology of pregnancy. *American Heart Association*, 130(12), 1003-1008.

- Scarpulla, R. C. (2011). Metabolic control of mitochondrial biogenesis through the PGC-1 family regulatory network. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1813(7), 1269-1278.
- Su, X., Chu, Y., Kordower, J. H., Li, B., Cao, H., Huang, L., Nishida, M., Song, L., Wang, D., & Federoff, H. J. (2015). PGC-1 α promoter methylation in Parkinson's disease [Versão eletrónica]. *Plos One*, 10(8), disponível.
- Switkowski, K. M., Jacques, P. F., Must, A., Kleinman, K. P., Gillman, M. W., & Oken, E. (2016). Maternal protein intake during pregnancy and linear growth in the offspring. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 104(4), 1128-1136.
- Szumilewicz, A., Wojtyła, A. Z., A, Drobnik-Kozakiewicz, I., Sawczyn, M., & Kwitniewska, A. (2013). Influence of prenatal physical activity on the course of labour and delivery according to the new Polish standard for perinatal care. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 20(2), 380-389.
- Villar, J., Cogswell, M., Kestler, E., Castillo, P., Menendez, R., & Repke, J. T. (1992). Effect of fat and fat-free mass deposition during pregnancy on birth weight. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 167, 1344-1352.
- Wang, Q., Liu, C., & Zhang, Z. (2016). Transthyretin and normal human pregnancy; mini review. *Critical Reviews in Eukaryotic Gene Expression*, 26, 273-277.
- Wolfe, L. A., Ohtake, P. J., Mottola, M. F., & McGrath, M. J. (1989). Physiological interactions between pregnancy and aerobic exercise. *Exercise and Sports Sciences Reviews*, 17, 295-351.
- World Health Organization. (2010). *Global recommendations on physical activity for health*. Geneve: World Health Organization.
- Yang, Z., & Huffman, S. L. (2013). Nutrition in pregnancy and early childhood and associations with obesity in developing countries. *Maternal & Child Nutrition*, 1, 105-119.
- Zeng, Z., Liu, F., & Li, S. (2017). Metabolic adaptations in pregnancy: a review. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 70, 59-65.

