

Luiz Alexandre Medrado de Barcellos

**RESPOSTA DO SISTEMA SEROTONÉRGICO CENTRAL
AO TREINAMENTO FÍSICO EM RATOS ALIMENTADOS
COM DIETA DE ALTA PALATABILIDADE.**

Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional

Universidade Federal de Minas Gerais

Belo Horizonte

2012

Luiz Alexandre Medrado de Barcellos

**RESPOSTA DO SISTEMA SEROTONÉRGICO CENTRAL
AO TREINAMENTO FÍSICO EM RATOS ALIMENTADOS
COM DIETA DE ALTA PALATABILIDADE.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências do Esporte da Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências do Esporte.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Danusa Dias Soares

Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional
Universidade Federal de Minas Gerais
Belo Horizonte
2012

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Fisiologia do Exercício (LAFISE) da Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional e no Laboratório de Endocrinologia e Metabolismo do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Foram concedidos auxílios financeiros do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), da Pró-Reitoria de Pesquisa (PRPq) da UFMG e Ministério dos Esportes.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Luiz Rubens e Suzana Thereza, pelo esforço na criação e formação dos filhos durante todos os momentos.

Aos meus queridos irmãos, Marta Luiza, Ana Paula, Helena, Maria Lúcia e Namur, pelo afeto, carinho, amizade e por compartilharem todos os anseios, desejos e expectativas.

Às preciosas sobrinhas Anna Luiza e Bruna que apesar de já bem crescidas, ainda transmitem a mesma alegria e luz de doces crianças.

Ao astuto sobrinho João, o mais novo membro da família, pelo ânimo que surge com seu sorriso, nos fazendo entender que nem tudo precisa ser explicado.

À Juliana (Bonita) por caminhar ao meu lado como companheira e amiga, sempre incentivando o meu crescimento profissional. Pelos conselhos, pela compreensão, pelo carinho, por tantos momentos, por uma vida juntos. Obrigado pelo verdadeiro amor!

À Professora Dra. Danusa Dias Soares pela orientação, pelo exemplo de ética, cidadania e dignidade. Sou extremamente grato pela amizade e convívio, os quais me proporcionaram um aprendizado de princípios e ideais necessários a qualquer ser humano.

Ao Professor Dr. Nilo Resende Viana Lima por mostrar que a aquisição de um novo conhecimento leva em conta muitos critérios e o mais importante deles talvez seja se desfazer da convicção.

Ao Professor Dr. Cândido Celso Coimbra pelas importantes considerações a respeito do trabalho que me fizeram ter uma “visão” diferente dentro da pesquisa e pelo acesso à estrutura do Laboratório de Endocrinologia e Metabolismo do ICB.

Ao Professor Dr. Rafael Escorsim Szawka do Laboratório de Endocrinologia e Metabolismo do ICB pela inestimável colaboração desde a ligação do HPLC para medida das monoaminas e seus metabólitos, até a quantificação de

proteínas. Com certeza, a sua participação foi fundamental não apenas para obtenção dos resultados, mas também na minha construção de uma concepção de Ciência.

Ao Professor Dr. José Virgílio Coelho do Departamento de Alimentos da Escola de Farmácia- UFMG pela disponibilidade e serenidade para ensinar e realizar passo a passo a análise bromatológica das dietas.

À Professora Dra. Leida Maria Botion do Laboratório de Metabolismo Intermediário por possibilitar a realização das análises de glicose, triacilglicerol e colesterol total.

À Janine Costa Ivo, técnica do Laboratório de Endocrinologia e Metabolismo do ICB, pelo comprometimento na realização das análises de insulina e leptina.

Ao Iuri, técnico do Laboratório de Endocrinologia e Metabolismo do ICB, por colaborar com a preparação de vidrarias utilizadas no HPLC.

Aos colegas Érika e Jonas pelo empenho e dedicação nos procedimentos de dissecação.

À Letícia Maria de Souza Cordeiro (Lets) pela participação e disponibilidade incondicionais em várias etapas deste trabalho. Pelo seu incentivo e contribuição nas análises de glicose, triacilglicerol e colesterol. Muito obrigado pelos momentos de bancada, nos quais aprendi muito.

Ao Reinaldo Teles Paulinelli Jr. por ter sido uma referência na minha decisão de escolher o caminho do mestrado e ao mesmo tempo pela confiança depositada em mim, para ser responsável pelas análises de hemoglobina e hematócrito em seu mestrado.

À Ázula pelo envolvimento e apoio diário nas coletas, pela sugestão e realização da análise bromatológica. Agradeço principalmente, pela valiosa amizade.

À Patrícia do Carmo Rocha Rabelo (Pat) por toda grandiosa contribuição, pela prontidão em ajudar mesmo quando cercada de tarefas. Realmente, você foi muito importante, obrigado pela amizade.

À Débora Romualdo Lacerda pelo exemplo de dedicação ao Mestrado. Muito obrigado por ter participado desta jornada com o simples desejo de que tudo desse certo.

À Roberta Miranda pelo acolhimento e apoio logo no início. Obrigado pela atenção que fostes capazes de dar, mesmo no momento final do seu mestrado.

Ao Francisco Coelho (Chico) pela alegria que é ser seu amigo, pelas boas risadas e pelo seu astral contagiante. Valeu!

À Maria Aparecida Vasconcelos Faria (Cida) pelo interesse em melhorar a qualidade e a segurança dos procedimentos no LAFISE, além do apoio nas breves, mas valiosas conversas.

À Sueli, pelo bom humor e alegria constantes que sempre nos fizeram pelo menos refletir sobre como é desnecessária a impaciência.

Aos funcionários do CEBIO/ICB pelo cuidado com os animais e pela organização quanto aos pedidos solicitados.

Às secretárias da pós graduação por compartilharem a nossa rotina, muitas vezes difíceis.

Aos demais amigos do LAFISE, Washington, Milene, Ivana, Renata, Michele, Cletiana, Ana Cançado, Ana Cláudia, Willian, Guilherme, André (Bob) e Carol, pelo convívio extremamente saudável. Obviamente, cada um de vocês tem uma parcela de contribuição não apenas neste trabalho, mas também em minha formação acadêmica.

Agradeço a todos que direta ou indiretamente contribuíram pra que este trabalho fosse realizado.

“At the age of over 89 years, I remember with nostalgia the work of Vialli and myself in which the unknown secretory product of enterochromaffin cells was first extracted from the rabbit gastric mucosa and named enteramine . . . Through the extraordinary research by Rapport and co-workers on serotonin, this substance could be identified, exactly fifty years ago, as 5-hydroxytryptamine. Since then, an enormous amount of work has been done on the amine, especially after the discovery of its fundamental role in neurotransmission. Now, for more than twenty years, my research is focussed on neuropeptides from amphibian skin and invertebrate tissue, but I always consider enteramine as my firstborn daughter.”

Vittorio Erspamer

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo verificar o efeito do treinamento físico e da administração crônica intraperitoneal (ip.) de L-triptofano (TRP) sobre o sistema serotoninérgico central e o balanço energético de ratos alimentados com dieta de alta palatabilidade. Foram utilizados 56 ratos Wistar recém desmamados, pesando entre 60 e 80 gramas, os quais foram mantidos em gaiolas individuais em uma sala com controle de luz e temperatura, com livre acesso à água e ração, durante 17 semanas. A ingestão alimentar e a massa corporal dos ratos foram medidas a cada dois dias durante todo o experimento. Inicialmente os ratos foram divididos em dois grupos: dieta padrão (DP) ou dieta de alta palatabilidade (DAP). Após um período de familiarização à corrida em esteira os ratos foram submetidos a um teste de esforço progressivo até a interrupção voluntária (TP) para estabelecer a intensidade do treinamento físico. Em seguida, os dois grupos foram subdivididos em DP não treinado (DP-NT) e treinado (DP-T) e DAP não treinado (DAP-NT) e treinado (DAP-T) para dar início ao período de oito semanas de treinamento físico. Ao final da 4ª semana de treinamento os ratos foram submetidos a um 2º TP para determinação do desempenho físico antes da administração crônica de TRP ou salina (SAL) ip. A partir da 5ª semana de treinamento físico ocorreu nova subdivisão em grupos que receberam três injeções semanais de TRP ou SAL ip. até o final do treinamento físico. Após 48 h da última sessão de treinamento os ratos foram submetidos a um 3º TP para determinação do desempenho físico. Os ratos foram eutanasiados 48 h após o 3º TP para colheita de sangue e retirada de tecidos. Nas 9 semanas anteriores ao início do treinamento físico, a ingestão alimentar, a massa corporal e a eficiência energética foram 40, 10 e 56% respectivamente maiores no DAP em comparação ao DP. A administração de TRP ip. não alterou nenhuma das variáveis analisadas. Como esperado, o treinamento físico aumentou o desempenho físico (DP-NT: $22,9 \pm 1,4$ vs. DP-T: $54,3 \pm 2,6$ kgm e DAP-NT: $20,1 \pm 1,8$ vs. DAP-T: $49,6 \pm 4,3$ kgm). Além disso, o treinamento físico reduziu a ingestão alimentar e a massa corporal de ratos, independente da dieta ingerida (DP-NT: $0,09 \pm 0,6$ vs. DP-T: $-2,2 \pm 0,4$ g.dia⁻¹; $p = 0,007$ e DAP-NT: $1,3 \pm 0,6$ vs. DAP-T: -

2,6 ± 0,6 g.dia⁻¹; p < 0,001). Entretanto, não foram verificadas diferenças na massa de tecido adiposo entre os grupos. Além disso, o treinamento físico não preveniu o aumento das concentrações de leptina (DAP-NT: 29,9 ± 6,0 vs. DAP-T: 25,7 ± 6,2 ng.mL⁻¹) e insulina plasmáticas (DAP-NT: 5,0 ± 0,6 vs. DAP-T: 4,8 ± 0,5 ng.mL⁻¹) induzido pela dieta. As concentrações de 5-HT e 5-HIAA e a relação 5-HIAA/ 5-HT no hipotálamo ou no hipocampo não foram diferentes entre os grupos. Apesar disso, a relação 5-HIAA/ 5-HT no hipotálamo correlacionou-se positivamente com a ingestão alimentar (r = 0,76; p = 0,007) e com a massa corporal (r = 0,64; p = 0,017) no DAP-NT. Em adição, a relação 5-HIAA/ 5-HT no hipotálamo se correlacionou com a massa corporal (r = 0,65; p = 0,020) somente para o grupo DAP-T. Além disso, verificou-se uma correlação direta entre a relação 5-HIAA/ 5-HT no hipocampo e a ingestão alimentar nos DAP-NT (r=0,61; p=0,027) e DAP-T (r=0,68; p=0,016). Já a massa corporal correlacionou-se diretamente com a relação 5-HIAA/ 5-HT no hipocampo nos grupos treinados independente da dieta (DP-T: r=0,67; p=0,017 e DAP-T: r=0,80; p=0,002). Verificamos ainda que o treinamento preveniu o aumento da relação 5-HT/DA induzido pela dieta de alta palatabilidade (DAP-NT: 2,22 ± 0,22 vs. DAP-T: 1,47 ± 0,10). Concluímos que o treinamento físico interfere no balanço energético independente da dieta, sem modificar o sistema serotoninérgico de ratos em repouso. Entretanto, é provável que o treinamento físico possa interferir na transmissão serotoninérgica devido a reversão do aumento na relação 5-HT/DA induzido pela dieta de alta palatabilidade.

Palavras-chaves: serotonina, obesidade e treinamento físico

ABSTRACT

The present study aimed to determine the effect of physical training and chronic administration of L-tryptophan (TRP) intraperitoneal (ip.) on the central serotonergic system and energy balance in rats fed a high palatability diet. 56 male Wistar rats weighing between 60 and 80 grams (weaning) were used in this study. Rats were kept in individual cages in a room with controlled light and temperature with free access to water and chow for 17 weeks. Food intake and body weight of rats were measured every two days throughout the experiment. Initially, the rats were divided into two groups: standard diet (DP) or a high palatability diet (DAP). After the treadmill running familiarization, rats were submitted to a progressive exercise test until voluntary interruption of effort (TP) to establish the intensity of physical training. Then, the two groups were divided in untrained (DP-NT and DAP-NT) and trained (DP-T and DAP-T) rats to the beginning of physical training which have duration for eight weeks. At the end of 4th week of training, rats were submitted to a 2nd TP to verify the performance before the chronic administration of TRP or saline (SAL) ip. From the 5th week of training, rats were again divided in two groups: that had received three weekly injections of TRP or SAL ip. by the end of physical training 48 h after the last training session, rats were subjected to a 3rd TP to determine maximal physical performance attained. 48 h after 3rd TP, rats were euthanized; blood was collected and tissues were removed. During the nine weeks prior to the beginning of the training, food intake, body mass and energy efficiency were 40, 10 and 56% higher in DAP compared to DP. TRP intraperitoneal administration did not alter any of the variables measured in this study. As expected, physical training increased the performance (DP-NT: 22.9 ± 1.4 vs. DP-T: 54.3 ± 2.6 kgm and DAP-NT: 20.1 ± 1.8 vs. DAP-T: 49.6 ± 4.3 kgm). Moreover, the training reduced food intake and body weight of rats, independently of diet ingested (DP-NT: 0.09 ± 0.6 vs. DP-T: -2.2 ± 0.4 g.day⁻¹, p = 0.007 and DAP-NT: 1.3 ± 0.6 vs. DAP-T: -2.6 ± 0.6 g.day⁻¹, p <0.001). However, no difference was observed in adipose tissue mass between groups. In addition, the training did not prevent the increase of the plasma concentration of leptin (DAP-NT: 29.9 ± 6.0 vs. DAP-T: 25.7 ± 6.2 ng.mL⁻¹) and insulin

(NT-DAP: 5.0 ± 0.6 vs. DAP-T: 4.8 ± 0.5 ng.mL⁻¹) induced by high palatability diet. 5-HT and 5-HIAA concentrations and the ratio 5-HIAA/5-HT into the hippocampus or hypothalamus were not different between groups. Nevertheless, the ratio of 5-HIAA/5-HT into the hypothalamus was positively correlated with food intake ($r = 0.76$, $p = 0.007$) and body mass ($r = 0.64$, $p = 0.017$) in DAP-NT. Moreover, the ratio of 5-HIAA/5-HT was correlated with body mass only in the DAP-T ($r = 0.65$, $p = 0.020$). There was also a direct correlation between the ratio 5-HIAA/5-HT into the hippocampus and food intake in DAP-NT ($r = 0.61$, $p = 0.027$) and DAP-T ($r = 0.68$; $p = 0.016$). And body weight was positive correlated with the ratio 5-HIAA/5-HT into the hippocampus in trained groups, independent of diet ingested (DP-T: $r = 0.67$, $p = 0.017$ and DAP-T: $r = 0.80$ $p = 0.002$). We also found that training had prevented the increased in ratio 5-HT/DA induced by high palatability diet (DAP-NT: 2.22 ± 0.22 vs. DAP-T: 1.47 ± 0.10). From these results, we can conclude that physical training modified the energy balance, independent of diet ingested. This response was attained without modifying the serotonergic system in resting rats. However, it is likely that the training can interfere with the serotonergic transmission due to abolishment of the increase in the ratio 5-HT/DA induced by high palatability diet.

Key words: serotonin, obesity and physical training

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.1:	Modelo dos mecanismos que contribuem para o aumento da disponibilidade de triptofano no SNC durante o exercício físico.....	31
FIGURA 3.1:	Diagrama da divisão dos animais em oito grupos experimentais.....	47
FIGURA 3.2:	Representação cronológica do delineamento experimental.....	49
FIGURA 3.3:	Representação esquemática do teste de esforço progressivo.....	55
FIGURA 3.4:	Características do protocolo de treinamento físico.....	56
FIGURA 4.1:	Efeito de nove semanas de dieta de alta palatabilidade na variação da ingestão alimentar e da massa corporal de ratos recém desmamados....	65
FIGURA 4.2:	Efeito da dieta de alta palatabilidade sobre a eficiência energética em ratos recém desmamados, após oito semanas.....	66
FIGURA 4.3:	Efeito do treinamento físico sobre a ingestão alimentar e o ganho de massa corporal de ratos alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade em comparação aos controles.....	75
FIGURA 4.4:	Efeito do treinamento físico sobre a eficiência energética de ratos alimentados com dieta padrão ou dieta de alta palatabilidade em comparação aos controles.....	77
FIGURA 4.5:	Correlação entre o desempenho físico e a ingestão alimentar de animais alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade, treinados ou não treinados.....	79

FIGURA 4.6:	Efeito do treinamento físico sobre as concentrações de repouso de 5-HT, 5-HIAA e 5-HIAA/5-HT no hipotálamo de ratos alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade em comparação aos controles.....	87
FIGURA 4.7:	Correlação entre a relação 5-HIAA/5-HT no hipotálamo e o desempenho físico de animais alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade, não treinados e treinados.....	89
FIGURA 4.8:	Correlação entre a relação 5-HIAA/5-HT no hipotálamo e a ingestão alimentar de animais alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade, não treinados e treinados.....	91
FIGURA 4.9:	Correlação entre a concentração de 5-HT no hipotálamo e a massa corporal de animais alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade, não treinados e treinados.....	93
FIGURA 4.10:	Correlação entre a relação 5-HIAA/5-HT no hipotálamo e a massa corporal de animais alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade, não treinados e treinados.....	95
FIGURA 4.11:	Efeito do treinamento físico sobre as concentrações de repouso de 5-HT, 5-HIAA e 5-HIAA/5-HT no hipocampo de ratos alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade em comparação aos controles.....	97
FIGURA 4.12:	Correlação entre a relação 5-HIAA/5-HT no hipocampo e o desempenho físico de animais alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade não treinados e treinados.....	99

FIGURA 4.13:	Correlação entre a relação 5-HIAA/5-HT no hipocampo e a ingestão alimentar de animais alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade, não treinados e treinados.....	101
FIGURA 4.14:	Correlação entre a relação 5-HIAA/5-HT no hipocampo e a massa corporal de animais alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade, não treinados e treinados.....	103
FIGURA 4.15:	Efeito do treinamento físico sobre as concentrações de DA e DOPAC e a relação DOPAC/DA no hipotálamo de ratos alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade em comparação aos controles.....	105
FIGURA 4.16:	Efeito do treinamento físico sobre a relação 5-HT/ DA no hipotálamo de ratos alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade em comparação aos controles.....	107

LISTA DE TABELAS

TABELA 3.1:	Composição básica das dietas.....	52
TABELA 4.1:	Massa corporal e desempenho físico medidos durante o primeiro teste de esforço progressivo até a fadiga realizado após nove semanas.....	67
TABELA 4.2:	Efeito da administração crônica ip de TRP sobre a massa corporal e o desempenho físico de ratos alimentados com dieta padrão ou dieta de alta palatabilidade, treinados ou não treinados.....	69
TABELA 4.3:	Efeito da administração crônica intraperitoneal de TRP sobre a variação da ingestão alimentar e da massa corporal de ratos alimentados com dieta padrão ou dieta de alta palatabilidade, treinados ou não treinados.....	70
TABELA 4.4:	Efeito da administração crônica de TRP ip nas concentrações de 5-HT, 5-HIAA e a razão 5-HIAA/5-HT no hipotálamo e no hipocampo de ratos alimentados com dieta padrão ou dieta de alta palatabilidade, treinados ou não treinados.....	72
TABELA 4.5:	Efeito de oito semanas de treinamento sobre a massa corporal e o desempenho físico de ratos alimentados com dieta padrão ou dieta de alta palatabilidade.....	74

TABELA 4.6:	Concentrações plasmáticas de glicose, insulina, leptina, triacilglicerol e colesterol total em ratos alimentados com dieta padrão ou dieta de alta palatabilidade, treinados ou não treinados, após o repouso.....	82
TABELA 4.7:	Tecido adiposo total, retroperitoneal, mesentérico, epididimal, músculo gastrocnêmio, índice de Lee de ratos alimentados com dieta padrão ou dieta de alta palatabilidade, treinados ou não treinados, após o repouso.....	85

LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1: Parecer do Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Minas Gerais.....	146
ANEXO 2: Parecer do Colegiado de Pós-graduação em Ciências do Esporte da Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional.....	147

LISTA DE ABREVIATURAS

5-HIAA: Ácido 5-hidroxiindoleacético

5-HT: Serotonina

5-HTP: 5-hidroxitriptofano

5-HTT: transportador de 5-HT

AACR: Aminoácidos de cadeia ramificada

AAD: Aminoácido aromático decarboxilase

AGL: Ácido graxo livre

AGL's: Ácidos graxos livres

AgRP: Proteína relacionada ao gene agouti

ALDH: aldeído desidrogenase

ANOVA: Análise de variância

APO: área preótica

ARC: núcleo arqueado

CART: Transcrito regulado por cocaína e anfetamina

CRH: Hormônio liberador de corticotropina

DAP: dieta de alta palatabilidade

DMN: núcleo dorsomedial do hipotálamo

DOPAC: 3,4- ácido diidroxifenilacético

DP: dieta padrão

EPM: Erro padrão da média

icv.: intracerebroventricular

ip.: intraperitoneal

ISRS's: Inibidores da recaptção de serotonina

LHA: Área hipotalâmica lateral

MAO: Monoaminaoxidase

MC4R: Receptor de melanocortina 4

m-CPP: Meta-clorofenilpiperazina

NPY: Neuropeptídeo Y

NT: não treinado

p-CPA: Paraclorofenilalanina

POMC: Própiomelanocortina

PRL: Prolactina

PVN: núcleo paraventricular do hipotálamo

SAL: salina

SNC: Sistema Nervoso Central

T: treinado

TE: tempo de exercício

TP: teste de esforço progressivo até a interrupção voluntária

TRP: L-Triptofano

Vmax: velocidade máxima

VMH: núcleo ventromedial do hipotálamo

α -MSH: α - melanócito estimulante

Sumário

1 INTRODUÇÃO.....	28
1.1 Sistema Serotonérgico e Exercício Físico: respostas agudas e treinamento físico.....	29
1.2 Participação do Sistema Serotonérgico na modulação alimentar.....	34
2 OBJETIVOS E HIPÓTESES.....	40
2.1 Objetivo geral.....	41
2.2 Objetivos específicos.....	41
2.3 Hipóteses.....	42
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	44
3.1 Cuidados éticos.....	45
3.2 Animais.....	45
3.3 Delineamento experimental.....	48
3.4 Dietas.....	
3.5 Análise Bromatológica das dietas padrão e de alta palatabilidade.....	49

3.6 Massa corporal e ingestão alimentar.....	52
3.7 Familiarização ao exercício físico.....	53
3.8 Avaliação do desempenho físico.....	54
3.9 Protocolo de treinamento físico.....	55
3.10 Administração ip. de L-triptofano.....	57
3.11 Índice de Lee.....	57
3.12 Eutanásia dos animais e colheita de amostras sanguíneas e teciduais.....	58
3.13 Variáveis medidas.....	59
3.14 Variáveis de controle.....	61
3.15 Variáveis calculadas.....	61
3.16 Análise estatística.....	62
4 RESULTADOS.....	64
4.1 Ingestão alimentar e massa corporal de animais alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade antes do treinamento físico.....	65

4.2 Eficiência energética de animais alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade antes do treinamento físico.....	66
4.3 Desempenho físico de animais alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade antes do treinamento físico.....	67
4.4 Desempenho físico de animais alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade, treinados e não treinados com administração crônica de L-triptofano ou salina ip.....	68
4.5 Ingestão alimentar e massa corporal de animais alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade, treinados e não treinados com administração crônica de L-triptofano ou salina ip.....	71
4.6 Concentrações de 5-HT e 5-HIAA e a relação 5-HIAA/5-HT no hipotálamo e no hipocampo de animais alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade, treinados ou não treinados com administração crônica de L-triptofano ou salina ip.....	71
4.7 Desempenho físico de animais alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade após oito semanas de treinamento físico.....	73
4.8 Ingestão alimentar e massa corporal de animais alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade, treinados e não treinados.....	74
4.9 Eficiência energética de animais alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade, treinados e não treinados.....	76
4.10 Correlação entre o trabalho realizado no 3° TP e a ingestão alimentar de animais alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade, treinados ou não treinados.	78

4.11	Concentrações plasmáticas de glicose, insulina, leptina, triacilglicerol e colesterol total de ratos alimentados com dieta padrão ou dieta de alta palatabilidade, treinados ou não treinados em repouso.....	80
4.12	Tecidos adiposos retroperitoneal, mesentérico, epididimal, índice de adiposidade músculo gastrocnêmio e índice de Lee de animais alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade treinados e não treinados.....	83
4.13	Concentrações de 5-HT e 5-HIAA e a relação 5-HIAA/5-HT no hipotálamo de animais alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade, treinados ou não treinados, em repouso.....	86
4.14	Correlação entre a relação 5-HIAA/ 5-HT no hipotálamo e o desempenho físico de animais alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade, treinados ou não treinados.....	88
4.15	Correlação entre a relação 5-HIAA/ 5-HT no hipotálamo e a ingestão alimentar de animais alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade, treinados ou não treinados.....	90
4.16	Correlação entre a concentração de 5-HT no hipotálamo e a massa corporal de animais alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade, treinados ou não treinados.....	92
4.17	Correlação entre a relação 5-HIAA/ 5-HT no hipotálamo e a massa corporal de animais alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade, treinados ou não treinados.....	94

4.18 Concentrações de 5-HT e 5-HIAA e a relação 5-HIAA/5-HT no hipocampo de animais alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade, treinados ou não treinados, em repouso.....	96
4.19 Correlação entre a relação 5-HIAA/5-HT no hipocampo e o desempenho físico de animais alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade, treinados ou não treinados.....	98
4.20 Correlação entre a relação 5-HIAA/5-HT no hipocampo e a ingestão alimentar de animais alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade, treinados ou não treinados.....	100
4.21 Correlação entre a relação 5-HIAA/ 5-HT no hipocampo e a massa corporal de animais alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade, treinados ou não treinados.....	102
4.22 Concentrações de DA e DOPAC e a relação DOPAC/DA no hipotálamo de animais alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade, treinados ou não treinados, em repouso.....	104
4.23 Relação 5-HT/DA no hipotálamo de animais alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade, treinados ou não treinados, em repouso.....	106
5 DISCUSSÃO.....	109
6 CONCLUSÃO.....	122

REFERÊNCIAS..... 124

ANEXOS..... 145

1 INTRODUÇÃO

1.1 Sistema Serotonérgico e Exercício Físico: respostas agudas e treinamento físico

O sistema serotonérgico origina-se principalmente de células localizadas nos núcleos da rafe no mesencéfalo e possuem projeções ascendentes para o hipocampo, hipotálamo, córtex cerebral e corpo estriado. Outros neurônios serotonérgicos projetam-se para o bulbo e para a medula espinhal (Chaouloff, 1989). A biossíntese de 5-hidroxitriptamina (5-HT, serotonina) compreende a hidroxilação do aminoácido triptofano (TRP) em 5-hidroxitriptofano (5-HTP), pela enzima triptofano hidroxilase, sendo esta a etapa limitante da síntese. Em condições fisiológicas a atividade da enzima triptofano hidroxilase não é saturável e a concentração de TRP livre no plasma é o principal determinante da síntese de 5-HT (FERNSTROM & WURTMEN, 1972; CHAOULOFF *et al.*, 1985; FADDA, 2000). Em seguida, o 5-HTP é descarboxilado em 5-HT na reação mediada pela enzima aminoácido aromático descarboxilase (AAD). A 5-HT é armazenada em vesículas pré sinápticas localizada nos axônios e quando liberada na fenda sináptica pode se ligar tanto a receptores pós, quanto pré sinápticos, ser recaptada para o axônio ou degradada em 5-hidroxiindolacetaldéido pela enzima monoaminoxidase (MAO) e posteriormente em 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) pela aldeído desidrogenase (ALDH) (FERNSTROM & WURTMEN, 1972; CHAOULOFF *et al.*, 1985; FERNSTROM, 1994; FADDA, 2000). Além disso, a 5-HT possui uma ampla distribuição no organismo, sendo encontrada não somente no sistema nervoso central, mas também nas células enterocromafins do trato gastrintestinal e nas plaquetas. Essas últimas não a sintetizam, mas acumulam a 5-HT presente no plasma através de transporte ativo (HARDMAN, 2001).

Em repouso, cerca de 90% do TRP total encontra-se ligado à albumina e 10% está na forma livre na corrente sanguínea (DAVIS *et al.*, 2000; PITSILADIS *et al.*, 2002) e um aumento da síntese de 5-HT central está diretamente associada a maior disponibilidade de TRP livre no plasma (FERNSTROM & WURTMEN, 1972; CHAOULOFF, 1997; STRUDER & WEICKER, 2001). O aumento na disponibilidade central de TRP é determinado por alterações nas

concentrações plasmáticas de ácidos graxos livres (AGL's) e de aminoácidos de cadeia ramificada (AACR) (leucina, isoleucina e valina) (NEWSHOLME *et al.*, 1992; DAVIS *et al.*, 2000; STRUDER & WEICKER, 2001).

Durante o exercício físico, devido a maior atividade simpática, ocorre um aumento na concentração plasmática de catecolaminas que estimulam a lipólise. Os triglicérides armazenados nos adipócitos são hidrolisados em glicerol e ácidos graxos. Então, o ácido graxo livre (AGL) se liga à albumina no plasma, deslocando a molécula de TRP, aumentando a forma livre desse aminoácido na corrente sanguínea (CHAOULOFF, 1989; DAVIS *et al.*, 2000) (FIGURA 1.1). Os ácidos graxos ligados à albumina plasmática são transportados para os tecidos ativos, onde são metabolizados para o fornecimento de energia (DAVIS *et al.*, 2000; STRUDER & WEICKER, 2001). Adicionalmente, durante o exercício físico pode haver um aumento na concentração plasmática de TRP livre, devido uma maior oxidação de AACR para atender as demandas energéticas (BLOMSTRAND *et al.*, 1989). O influxo, tanto de TRP livre quanto de AACR para o SNC, ocorre através do sistema L-transportador da barreira hematoencefálica. Assim, com o aumento na relação TRP livre/ AACR há predominância do transporte de TRP para o cérebro e conseqüente aumento na síntese e liberação de 5-HT (BLOMSTRAND *et al.*, 1989; DAVIS *et al.*, 2000). Portanto, o aumento na concentração plasmática de TRP livre durante o exercício físico, aumenta o influxo de TRP para o SNC através da barreira hematoencefálica, ocasionando maior síntese de 5-HT.

O aumento da atividade serotoninérgica central durante o exercício físico foi primeiramente evidenciada por Chaouloff *et al.* (1985). Nesse estudo, observou-se aumento na concentração plasmática de AGL's e TRP, acompanhado de maior conteúdo de 5-HT e 5-HIAA em regiões específicas do SNC de ratos, após uma hora de corrida em esteira a 20 m.min⁻¹. Esses resultados sugerem que durante o exercício, a taxa de captação de TRP nas diversas áreas do SNC possa ser diferente. Ainda, Fernstrom e Fernstrom (2006) sugeriram que a relação entre a síntese de 5-HT e concentração cerebral de TRP não é direta, uma vez que nem todos os neurônios serotoninérgicos

estão ativados durante o exercício físico e não respondem igualmente ao aumento da concentração de TRP. Soares *et al.* (2007) investigaram o efeito da injeção icv. de TRP sobre as concentrações cerebrais de 5-HT e de 5-HIAA e desempenho físico de ratos até a fadiga. Este experimento demonstrou que o conteúdo cerebral de 5-HT e 5-HIAA após o exercício físico até a fadiga, precedido de TRP icv., apresentou diferenças regionais, sugerindo que a resposta do sistema serotoninérgico ao exercício não é uniforme. Além disso, o desempenho físico mostrou relação inversa com o conteúdo de 5-HT na área pré-óptica (APO) e direta no hipocampo.

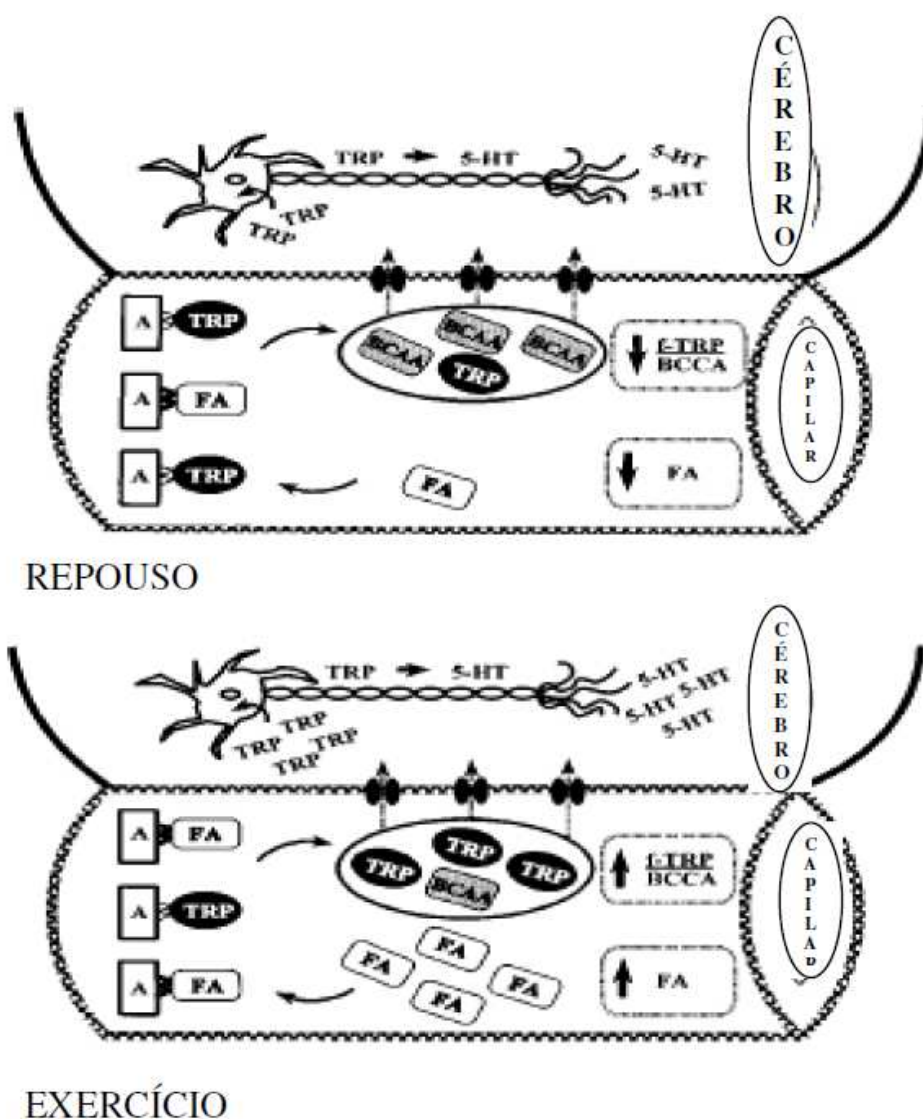


FIGURA 1.1: Modelo dos mecanismos que contribuem para o aumento da disponibilidade de TRP no SNC durante o exercício físico. BCAA, aminoácido de cadeia ramificada; FA, ácido graxo; f-TRP, triptofano livre; 5-HT, serotonina; TRP, triptofano (DAVIS *et al.*, 2000).

Além da resposta aguda do sistema serotoninérgico ao exercício físico, estudos têm investigado as alterações deste sistema ao treinamento físico (ACWORTH *et al.*, 1986; DEY *et al.*, 1992; LANGFORT *et al.*, 2006). Brown *et al.* (1979) foram os primeiros a analisarem a concentração de 5-HT no cérebro de ratos após oito semanas de treinamento físico em esteira. A concentração de 5-HT foi menor no córtex cerebral e maior no mesencéfalo dos animais treinados em comparação aos sedentários. Os pesquisadores sugeriram que, o menor ganho de peso, observado nos animais treinados, poderia estar relacionado principalmente ao aumento da ativação serotoninérgica no mesencéfalo (BROWN *et al.*, 1979). Jakeman *et al.*, (1994) compararam as concentrações de prolactina (PRL), hormônio utilizado para avaliar indiretamente a atividade serotoninérgica, principalmente em seres humanos, entre indivíduos treinados e não treinados após a administração de um agonista de receptor 5-HT_{1A} (buspirona). Nos indivíduos treinados houve menor secreção de PRL que foi atribuída a possível diminuição da atividade serotoninérgica, provavelmente decorrente da regulação negativa de receptores serotoninérgicos com o treinamento físico.

Já foi relatado na literatura que o sistema serotoninérgico influencia a atividade do eixo hipotálamo hipófise adrenal (HPA) (FULLER & SNODDY, 1990; SILVERSTONE *et al.*, 1994). Broocks *et al.* (1999) verificaram em maratonistas uma menor secreção de cortisol e prolactina comparado aos não treinados em resposta a administração de um agonista serotoninérgico, meta-clorofenilpiperazina (m-CPP) durante o repouso. Em contraste, neste mesmo estudo, a administração de um agonista de 5-HT_{1A} (ipsapirona) foi associada a aumento na concentração de cortisol tanto no grupo treinado, quanto no não treinado. Esses resultados sugerem uma mudança seletiva na sensibilidade de receptores serotoninérgicos ao treinamento físico. Dwyer e Browning (2000) demonstraram que a injeção ip. de m-CPP reduziu o tempo total de exercício até a fadiga em ratos. Entretanto, o treinamento de trinta minutos de corrida em esteira, durante seis semanas, aumentou a tolerância ao agonista serotoninérgico, evidenciado pelo maior tempo de exercício no teste até a fadiga. Em seres humanos, a administração oral de m-CPP após dez semanas de

treinamento físico atenuou a secreção de cortisol no repouso, sugerindo uma redução na sensibilidade de receptores 5-HT_{2c} (BROOCKS *et al.*, 2001). Outros achados mostram que o treinamento físico aumenta as concentrações de 5-HT-modulina, um peptídeo conhecido por diminuir a atividade de receptores 5-HT_{1B}, no hipocampo de ratos submetidos a treinamentos de alta intensidade (30 m.min⁻¹), em comparação ao treinamento moderado (18m.min⁻¹), cinco vezes por semana com duração de uma hora por dia (Chennaoui *et al.*, 2000). Adicionalmente, Chennaoui *et al.* (2001) analisaram a expressão de RNAm do receptor 5-HT_{1B} no cerebelo, estriado, córtex frontal e hipocampo de ratos submetidos a diferentes protocolos de treinamento físico. Nenhuma diferença na expressão foi verificada no estriado e hipocampo. Porém, houve uma redução da expressão de RNAm de 5-HT_{1B} no cerebelo e no córtex frontal dos ratos treinados em comparação aos sedentários. Os autores sugerem que esta mudança na sensibilidade de 5-HT_{1B} possa diminuir a liberação de 5-HT e conseqüentemente reduzir a atividade serotoninérgica. Gomez-Merino *et al.* (2001) encontraram atraso na liberação de 5-HT cerebral induzida por exercício físico intenso em ratos treinados em comparação aos não treinados, sugerindo uma mudança na sensibilidade do sistema serotoninérgico com o treinamento físico.

Recentemente, Caperuto *et al.* (2009) avaliaram a concentração de 5-HT no hipotálamo de ratos treinados após teste de natação até a exaustão. Os animais foram submetidos a um treinamento de natação de seis semanas. Até a quinta semana, os dois grupos realizaram uma sessão de natação por dia, sendo que na sexta semana um dos grupos realizou três sessões diárias. Estes últimos tiveram um menor desempenho no teste até a exaustão e uma maior concentração de 5-HT no hipotálamo após o teste até a exaustão. Além disso, não houve diferença na concentração de 5-HT no hipotálamo dos animais que treinaram uma vez por dia comparado aos controles não treinados. Os autores concluem que a concentração de 5-HT central após um teste até a exaustão pode ser influenciada pelas características do treinamento realizado previamente.

Estes achados, embora inconclusivos, demonstram que o exercício físico realizado de forma sistemática e regular contribui para a modulação do sistema serotoninérgico, seja por alteração na expressão de receptores pré e/ou pós sinápticos, seja pela alteração da concentração de 5-HT no SNC. Sendo assim, hipotetiza-se que o treinamento físico possa alterar o sistema serotoninérgico, contribuindo para um aumento no desempenho físico.

1.2 Participação do Sistema Serotoninérgico na modulação alimentar

O SNC é responsável por iniciar e interromper a ingestão alimentar, determinando a quantidade de alimento ingerido. Durante a alimentação, a informação sensorial gerada por peptídeos liberados pelo trato gastrointestinal, metabolismo no fígado e no pâncreas, cavidade orofaríngea e distensão gástrica, converge diretamente via nervos aferentes vagais para regiões do tronco encefálico e cadeia simpática para a coluna espinhal. A partir do tronco encefálico, estes sinais são transmitidos para outras áreas cerebrais, incluindo hipotálamo, tálamo, corpo estriado, córtex, hipocampo e amígdala (RICARDO & KOH, 1978; SAPER, 1982). Paralelamente, estas áreas recebem informações, via circulação sanguínea, de hormônios e substratos energéticos, as quais contribuem para a modulação do comportamento alimentar (SPIEGELMAN & FLIER, 2001). Além disso, neurônios corticais integram estas informações em paralelo, com estímulos visuais, olfatórios e cognitivos (ROLLS, 2005). Dependendo do balanço entre essas diferentes sinalizações, ocorrem ajustes na ingestão alimentar, pela alteração de sinais de apetite e saciedade, e/ou no gasto energético, pela modificação da taxa metabólica (ROBERTS & ADAMS, 1990; LEIBEL *et al.*, 1995). Esta integração é determinada por fatores genéticos e ambientais, os quais são influenciados pela interação de estímulos tais como, emoção, comportamento e características do alimento. Deste modo, a ingestão alimentar é regulada por mecanismos complementares que controlam a motivação para comer em função do estado energético do organismo e de fatores relacionados ao prazer, ao valor de recompensa e ao desejo, devido à disponibilidade ou palatabilidade

do alimento (DEL PARIGI *et al.*, 2002; STOECKEL *et al.*, 2008; VOLKOW *et al.*, 2008).

Particularmente, o hipotálamo é considerado o centro integrador de sinais relacionados à regulação autonômica (BUSNARDO *et al.*, 2010) e do balanço energético do organismo (SAHU, 2004). Os núcleos hipotalâmicos, incluindo o arqueado (ARC), paraventricular (PVN), ventromedial (VMH), dorsomedial (DMN) e a área hipotalâmica lateral (LHA) participam da regulação da ingestão alimentar e do peso corporal. Estudos clássicos, envolvendo estimulação e/ou lesões de áreas hipotalâmicas, identificaram o núcleo ventromedial do hipotálamo (VMH) como o “centro da saciedade” e a área hipotalâmica lateral (LHA) como o “centro da fome” (HETHERINGTON & RANSON, 1940; ANAND & BROBECK, 1951). A estimulação elétrica do VMH e da LHA reduziu e aumentou a ingestão alimentar, respectivamente (BRAY, 1990). Inversamente, a lesão eletrolítica bilateral do VMH induziu hiperfagia e consequente obesidade (HETHERINGTON & RANSON, 1940), enquanto a lesão bilateral da LHA causou afagia e morte em ratos, apesar da disponibilidade de alimentos (ANAND & BROBECK, 1951). Neurônios da LHA que estimulam a ingestão alimentar estão sob inibição tônica de projeções do estriado, do córtex e de outros núcleos hipotalâmicos (KELLEY *et al.*, 2005). Esta inibição pode ser reduzida pela ativação de respostas motoras que estimulam o comportamento alimentar (KELLEY *et al.*, 2005).

O sistema serotoninérgico participa na modulação da ingestão alimentar e no controle do peso corporal, em parte, pela regulação da função antagônica de neurônios localizados no ARC. Esses neurônios são divididos em dois grupos distintos no que diz respeito ao controle do balanço energético. Um grupo co-expressa neuropeptídeo Y (NPY) e proteína relacionada ao gene agouti (AgRP), os quais estão envolvidos na regulação do balanço energético estimulando o apetite, por essa razão denominados orexígenos, e reduzindo o metabolismo (STANLEY *et al.*, 1986; BILLINGTON *et al.*, 1991; HAHN *et al.*, 1998). Adjacentes a essas células, estão os neurônios que expressam própiomelanocortina (POMC), um polipeptídeo precursor de α -melanócito estimulante (α -MSH), e transcrito regulado por cocaína e anfetamina (CART),

os quais inibem a ingestão alimentar, razão pela qual são denominados anorexígenos, além de aumentarem a taxa metabólica (CHOI *et al.*, 2002; CHOI *et al.*, 2006). Todavia, a inibição de neurônios que expressam NPY e AgRP pode causar desinibição de neurônios POMC/ CART no ARC, contribuindo para sinais de saciedade (COWLEY *et al.*, 2001; BATTERHAM *et al.*, 2002). Além da regulação por parte da 5-HT (Heisler *et al.*, 2006), a expressão de α -MSH e AgRP no ARC pode ser regulada por hormônios derivados do tecido adiposo, leptina, e do trato gastrointestinal, grelina (ELIAS *et al.*, 1999; COWLEY *et al.*, 2003).

Adicionalmente, a 5-HT pode influenciar diretamente a atividade de células que contém receptor de melanocortina 4 (MC4R), principalmente no PVN. A injeção de 5-HT no PVN atenuou a resposta hiperfágica à prévia administração de noradrenalina (NA) em ratos (FLETCHER & PATERSON, 1989). Neurônios localizados no PVN, que são diretamente inervados por projeções serotoninérgicas (LIPOSITS *et al.*, 1987), apresentam aumento na expressão do hormônio liberador de corticotropina (CRH), em resposta à estimulação de agonistas serotoninérgicos (LAFLAMME *et al.*, 1996; CHOI *et al.*, 2006; HEISLER *et al.*, 2007). Assim, uma maior neurotransmissão serotoninérgica pode induzir aumento nas concentrações plasmáticas de cortisol/corticosterona, enquanto a redução do precursor ou do transportador de 5-HT pode levar a diminuição desses glicocorticóides (FULLER & SNODDY, 1990; SILVERSTONE *et al.*, 1994; VIELHABER *et al.*, 2005). Esta influência da 5-HT na atividade do eixo hipotálamo hipófise adrenal (HPA) é parcialmente modulada por receptores 5-HT_{2C} (HEISLER *et al.*, 2007). Foi demonstrado que camundongos 5-HT_{2C} *knockout*, os quais são hiperfágicos e obesos, apresentam maior concentração plasmática de corticosterona induzida pela administração ip. de m-CPP, um agonista de 5-HT_{2C}, em comparação aos controles *wild-type* (HEISLER *et al.*, 2007). Estes achados corroboram a hipótese de que a alteração dos circuitos serotoninérgicos centrais que modulam a atividade do eixo HPA está relacionada com o controle do balanço energético.

Suportando essa hipótese, a administração subcutânea aguda e crônica de metisergida, um antagonista dos receptores 5-HT_{1B} e 5-HT_{2C} induziu hiperfagia e aumentou as concentrações de NPY nos ARC e PVN de ratos (DRYDEN *et al.*, 1993). Adicionalmente, Dryden *et al.* (1996) demonstraram efeito hiperfágico e aumento nas concentrações de NPY nos ARC, PVN e DMN devido a administração subcutânea aguda de flesinoxan, agonista de 5-HT_{1A}, em ratos. Foi ainda observada uma resposta anoréxica à injeção subcutânea de m-CPP, associada a menores concentrações de NPY nos mesmos núcleos hipotalâmicos. Estes achados sugerem que a 5-HT regula a ingestão alimentar pela modulação da síntese de NPY no hipotálamo e esta resposta é dependente do tipo de receptor envolvido. Além disso, estudos demonstram que a estimulação pré sináptica de receptor 5-HT_{1A} pode aumentar a ingestão alimentar, provavelmente pela inibição da liberação de 5-HT (DOURISH *et al.*, 1986; HUTSON *et al.*, 1989). Park *et al.* (1999) encontraram um aumento nas concentrações do auto-receptor 5-HT_{1A} nos núcleos dorsal e medial da rafe e de transportador de 5-HT (5-HTT), tanto no mesencéfalo, quanto no hipotálamo de ratos com obesidade induzida por dieta de alta palatabilidade. Os resultados sugerem uma redução na atividade serotoninérgica pela maior estimulação auto-receptora 5-HT_{1A}, inibitória, além de um aumento na recaptação de 5-HT na fenda sináptica nestes animais.

Pesquisas utilizando manipulações farmacológicas que modificam a disponibilidade de 5-HT no SNC demonstraram uma relação inversa entre sistema serotoninérgico e ingestão alimentar (CECI *et al.*, 1989); (YEN *et al.*, 1987). Os inibidores seletivos da recaptação de serotonina (SSRIs), tais como fluoxetina e fluvoxamina, reduzem a ingestão alimentar e o ganho de peso em camundongos (YEN *et al.*, 1987; NONOGAKI *et al.*, 2007). Por outro lado, uma redução na biodisponibilidade de 5-HT pela administração icv. de 5,7-dihydroxytryptamine (5,7-DHT), uma neurotoxina seletiva de neurônios serotoninérgicos, foi associada à hiperfagia e subsequente ganho de peso em ratos (Saller & Stricker, 1976). Pijl *et al.* (1991) observaram que a inibição da recaptação de 5-HT, por meio da ingestão de 60 mg/dia de fluoxetina, reduziu o peso corporal de mulheres obesas e o conteúdo calórico ingerido diariamente. Esse efeito também pode ser observado em pessoas não obesas que

utilizaram 40 mg/dia de fluoxetina e diminuíram a ingestão calórica diária e a massa corporal (FOLTIN *et al.*, 1996). Além disso, o conteúdo de 5-HT no cérebro está diretamente relacionado à concentração plasmática e cerebral de TRP (PIETRASZEK *et al.*, 1992). Evidências mostram que a injeção crônica de TRP ip. diminui a ingestão alimentar e a massa corporal de camundongos, além de aumentar a concentração de 5-HT cerebral (COSKUN *et al.*, 2006).

Já está descrito na literatura que projeções serotonérgicas do tronco encefálico para áreas hipotalâmicas, participam da sinalização da leptina no comportamento alimentar e metabolismo (MEGUID *et al.*, 2000). Neurônios serotonérgicos localizados nos núcleos da rafe expressam receptores de leptina (HAY-SCHMIDT *et al.*, 2001) e tem sido evidenciado que a administração icv. ou ip. de leptina é capaz de alterar o “turnover” e o transporte de 5-HT em diferentes áreas cerebrais de roedores (CALAPAI *et al.*, 1999; CHARNAY *et al.*, 2000). Além disso, a deficiência genética na produção de leptina de camundongos *ob/ob* está associada com redução da expressão de transportadores de 5-HT no núcleo dorsal da rafe (COLLIN *et al.*, 2000). Mais ainda, a mutação de receptores de leptina em ratos Zucker obesos *fa/fa* está relacionada com o aumento na excitabilidade de neurônios serotonérgicos localizados no núcleo dorsal da rafe, em resposta a estimulação elétrica *in vitro*, (OHLIGER-FRERKING *et al.*, 2003; YADAV *et al.*, 2009). Adicionalmente, camundongos com mutação do receptor 5-HT_{2C} apresentam alterações metabólicas, tais como, hiperleptinemia e resistência à insulina devido à hiperfagia e conseqüente obesidade na vida adulta (NONOGAKI *et al.*, 1998).

Além da relação com a leptina, estudos demonstram uma relação entre sensibilidade à insulina e atividade serotonérgica central. Agonistas serotonérgicos (d-fenfluramina) e SSRIs (fluoxetina) aumentam a sensibilidade periférica ao hormônio pancreático (PESTELL *et al.*, 1989; SCHEEN *et al.*, 1991). Existem evidências que uma menor sensibilidade à insulina esteja associada com diminuição da atividade serotonérgica central (HORACEK *et al.*, 1999).

Já está descrito na literatura que o neurotransmissor 5-HT regula, pelo menos em parte a liberação de dopamina (DA) no SNC (WEST & GALLOWAY, 1996; GIANNAKOPOULOS *et al.*, 1998). Estudos têm proposto a interação entre sistema serotoninérgico e dopaminérgico na regulação da ingestão alimentar (OROSCO & NICOLAIDIS, 1994; ROUCH *et al.*, 1999). Especificamente, no hipotálamo, alterações simultâneas da liberação de 5-HT e DA na LHA e no VMH estão associadas ao padrão hiperfágico da obesidade (FETISSOV *et al.*, 2000a). Utilizando técnica de microdiálise tem sido mostrado que esta regulação integrada da ingestão alimentar pela 5-HT e a DA está sincronizada no estado alimentado durante os intervalos entre as refeições, sendo modificada na situação de jejum ou durante a ingestão alimentar (FETISSOV *et al.*, 2000a).

A ingestão de alimentos de alta palatabilidade contribui para o desbalanço energético, sugerindo alteração na via serotoninérgica (PARK *et al.*, 1999). Este padrão alimentar tem sido encontrado atualmente na sociedade, impactando em problemas como a obesidade. Estudos que relacionam modulação alimentar e gasto energético a alterações da via serotoninérgica incluem com frequência o uso de fármacos ou neuromoduladores (PIJL *et al.*, 1991; FOLTIN *et al.*, 1996; GARFIELD & HEISLER, 2009).

Considerando as evidências que a serotonina possui ação neuromoduladora na ingestão alimentar, bem como no gasto energético, e que o exercício físico regular (treinamento físico) aumenta a capacidade máxima de trabalho podendo modular a atividade da via serotoninérgica central, hipotetizamos que o desempenho físico dos animais com obesidade induzida por dieta poderia ser alterado. Assim, o treinamento físico tornar-se-ia uma ferramenta interessante para controle do balanço energético através da modulação do sistema serotoninérgico central.

2 OBJETIVOS E HIPÓTESES

2.1 Objetivo geral

Verificar o efeito do treinamento físico sobre a concentração de monoaminas centrais, o desempenho físico e a modulação alimentar em ratos alimentados com dieta de alta palatabilidade.

2.2 Objetivos específicos

Verificar o efeito do treinamento físico sobre a variação da ingestão alimentar e massa corporal de ratos alimentados com dieta de alta palatabilidade.

Verificar o efeito da administração crônica ip. de TRP sobre as concentrações centrais de monoaminas (5-HT e DA) e seus metabólitos (5-HIAA e DOPAC) e sobre o desempenho físico e a modulação alimentar.

Avaliar o efeito do treinamento físico sobre as concentrações de monoaminas centrais (5-HT e DA) e seus metabólitos (5-HIAA e DOPAC) de ratos alimentados com dieta de alta palatabilidade.

Verificar o efeito combinado da administração crônica ip. de TRP e do treinamento físico sobre as concentrações centrais de monoaminas (5-HT e DA) e seus metabólitos (5-HIAA e DOPAC) e sobre o desempenho físico e a modulação alimentar.

2.3 Hipóteses

1 H₁: A dieta de alta palatabilidade altera a atividade monoaminérgica central (5-HT e DA), o que pode aumentar a ingestão alimentar e a massa corporal dos animais.

1 H₀: A dieta de alta palatabilidade não altera a atividade monoaminérgica central, o que não altera a ingestão alimentar e a massa corporal dos animais.

2 H₁: A administração crônica ip. de TRP modifica a resposta da atividade monoaminérgica central induzida pela dieta de alta palatabilidade e conseqüentemente os efeitos desta sobre a ingestão alimentar, a massa corporal e o desempenho físico dos animais.

2 H₀: A administração crônica ip. de TRP não modifica a resposta da atividade monoaminérgica central induzida pela dieta de alta palatabilidade e conseqüentemente os efeitos desta sobre a ingestão alimentar, a massa corporal e o desempenho físico dos animais.

3 H₁: O treinamento físico modifica a atividade monoaminérgica central alterando os efeitos induzidos pela dieta de alta palatabilidade sobre a modulação alimentar e desempenho físico dos animais.

3 H₀: O treinamento físico não modifica a atividade monoaminérgica central, não alterando os efeitos induzidos pela dieta de alta palatabilidade sobre a modulação alimentar e desempenho físico dos animais.

4 H₁: O treinamento físico associado à administração crônica ip. de TRP amplia a resposta da atividade monoaminérgica central induzida pelos dois fatores separadamente, sobre a modulação alimentar e desempenho físico dos animais.

4 H₀: O treinamento físico associado à administração crônica ip. de TRP não amplia a resposta da atividade monoaminérgica central induzida pelos dois fatores separadamente, modulação alimentar e desempenho físico dos animais.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Cuidados éticos

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CETEA) da Universidade Federal de Minas Gerais (protocolo 097/09; ANEXO 1) e pelo Colegiado de Pós-graduação em Ciências do Esporte da Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional (EEFFTO) (ANEXO 2).

3.2 Animais

Foram utilizados 56 ratos recém desmamados da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus albinus*), com aproximadamente 21 dias de idade, pesando entre 60 e 80 gramas, provenientes do Centro de Bioterismo do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais (CEBIO/ UFMG). Os animais foram mantidos em gaiolas individuais (40 x 33 x 17 cm) em uma sala com temperatura seca controlada em aproximadamente 24° C, sob ciclo claro-escuro de 14/10 h, sendo as luzes acesas às 5 h, com livre acesso à água e ração. As gaiolas foram suspensas sobre dispensadores que permitiam a separação de fezes e ração.

Inicialmente os 56 ratos foram separados aleatoriamente em grupo dieta padrão (DP) ou grupo dieta de alta palatabilidade (DAP). Após nove semanas, o DP e o DAP foram subdivididos em não treinados (NT) e treinados (T). Ao final da décima terceira semana, a qual correspondia à quarta semana de treinamento físico, os ratos foram novamente subdivididos em animais que receberiam injeção ip. de salina (SAL) ou L-triptofano (TRP). Estas divisões deram origem a oito grupos experimentais: dieta padrão não treinado salina (DP-NT-SAL); dieta padrão não treinado triptofano (DP-NT-TRP); dieta padrão treinado salina (DP-T-SAL); dieta padrão treinado triptofano (DP-T-TRP); dieta de alta palatabilidade não treinado salina (DAP-NT-SAL); dieta de alta palatabilidade não treinado triptofano (DAP-NT-TRP); dieta de alta

palatabilidade treinado salina (DAP-T-SAL); dieta de alta palatabilidade treinado triptofano (DAP-T-TRP), os quais estão apresentados a seguir na Figura 3.1:

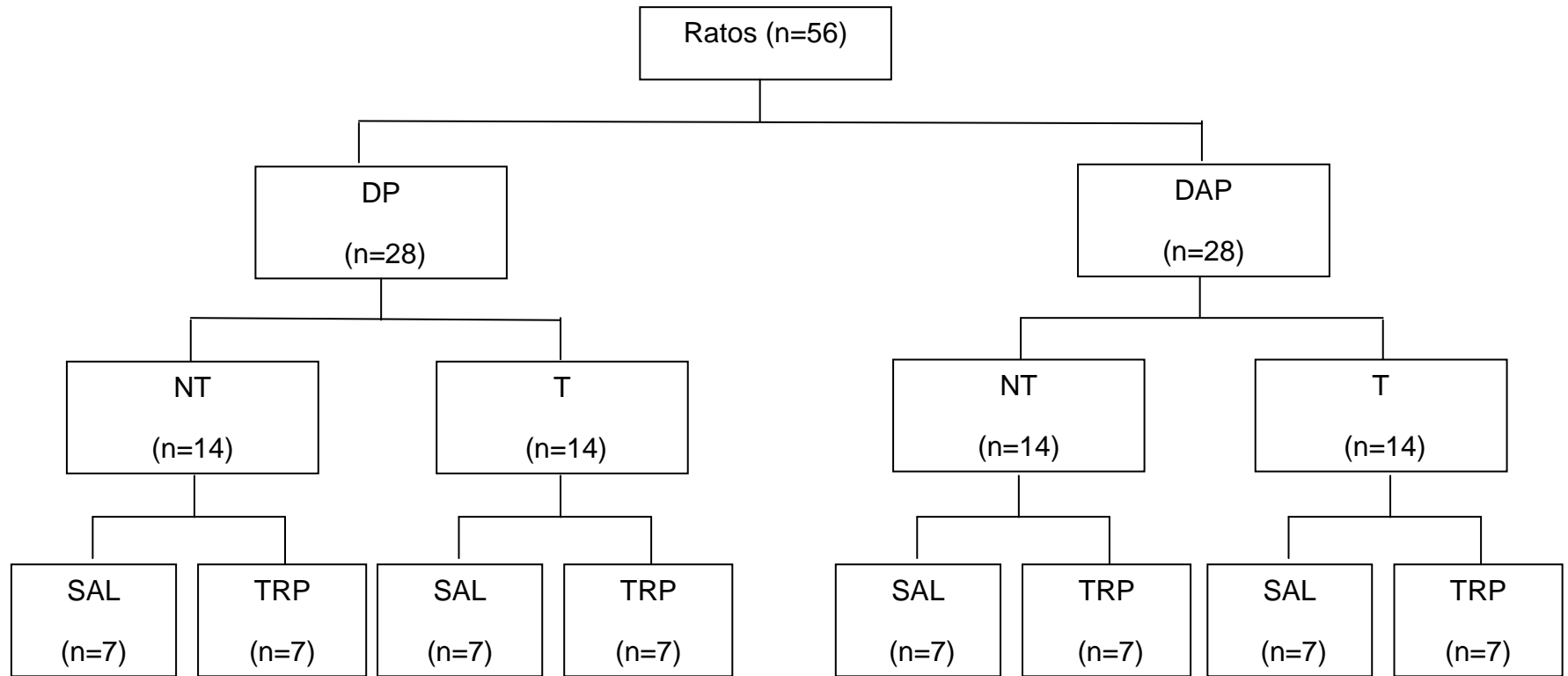


FIGURA 3.1: Diagrama da divisão dos animais em oito grupos experimentais. DP= dieta padrão, DAP= dieta de alta palatabilidade, NT= não treinado, T= treinado, SAL= salina, TRP= triptofano.

3.3 Delineamento experimental

Durante 17 semanas, os ratos foram alimentados com dieta padrão (Ração Labina-Purina) ou dieta de alta palatabilidade (adaptada de WILDING *et al.*, 1992). A massa corporal e a ingestão alimentar dos ratos foram medidas a cada 48 h no período da manhã (8 – 12 h). A partir da nona semana, os animais foram familiarizados a esteira rolante para pequenos animais durante cinco dias consecutivos. Esse procedimento foi realizado com a finalidade de ensinar aos ratos o sentido correto da corrida na esteira e prevenir o estresse diante de uma nova condição experimental. Dois dias após a última sessão de familiarização ao exercício em esteira, os animais foram submetidos ao 1º TP para avaliação do desempenho físico inicial. A partir da V_{max} do 1º TP, foi calculada a intensidade relativa individual de exercício para o treinamento físico. Dois dias após a última sessão da quarta semana de treinamento físico foi realizado um 2º TP para ajuste da intensidade de exercício. Nas últimas quatro semanas de treinamento físico, os animais receberam três injeções intraperitoneais por semana de TRP (100 mg. Kg^{-1} de massa corporal) ou SAL, com um intervalo de 48 h entre cada uma. As injeções ip. de TRP ou SAL foram realizadas logo após o término da sessão de treinamento físico. Dois dias após a última sessão de treinamento físico foi realizado o 3º e último TP para avaliação do desempenho físico final. Dois dias após o último TP, os animais foram eutanasiados por decapitação para colheita das amostras teciduais e sanguíneas para posterior análise (FIGURA 3.2).

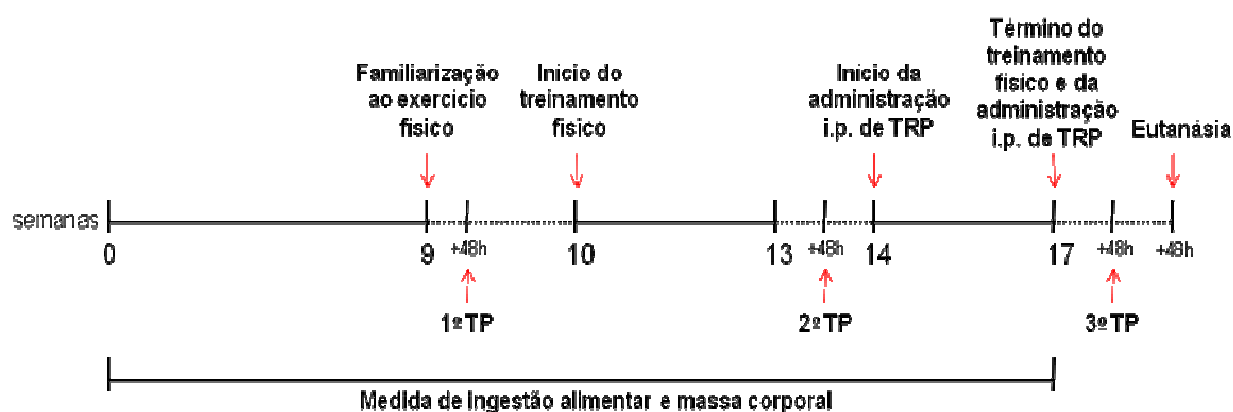


FIGURA 3.2: Representação cronológica do delineamento experimental. TP= Teste de esforço progressivo; ip.= intraperitoneal; TRP= L-triptofano. FONTE: do próprio autor.

3.4 Dietas

Durante todo o período experimental, os animais foram alimentados com dieta comercial padrão (Labina- Purina[®]) ou dieta de alta palatabilidade; composta de 40% de ração padrão comercial em pó (Labina- Purina[®]), 40% de leite condensado (Moça- Nestlé[®]), 11% de açúcar cristal e 9% de água (Wilding *et al.*, 1992). As rações foram pesadas e fornecidas aos animais em comedouro (12,0 x 6,7 x 3,5 cm) fixado no interior da gaiola.

3.5 Análise Bromatológica das dietas padrão e de alta palatabilidade.

3.5.1 Obtenção da amostra

A ração foi obtida do Laboratório de Fisiologia do Exercício (LAFISE) da Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional (EEFFTO) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) sendo que a dieta de alta palatabilidade foi confeccionada no próprio laboratório. Todas as análises foram realizadas no Laboratório de Análise de Alimentos da Escola de Farmácia da UFMG.

Previamente, as amostras foram trituradas e em seguida foi realizado o quarteamento para obtenção de alíquotas homogêneas.

3.5.2 Determinação de umidade

A determinação da umidade foi feita pela técnica de secagem em estufa (Quimis, Diadema, SP, Brasil). O resíduo obtido a partir da determinação da umidade foi utilizado para a análise dos conteúdos de lipídeos, proteínas e cinzas.

3.5.3 Determinação de lipídeos: extração com solvente a quente precedida de hidrólise ácida.

A determinação de lipídeos das dietas foi feita pela extração (Quimis Q308G26, Diadema, SP, Brasil) de solvente a quente, precedida de hidrólise ácida (Processo de Gerber).

3.5.4 Determinação de proteínas

A quantidade de proteína foi determinada a partir do conteúdo de nitrogênio presente na amostra (Método de Kjeldahl, citado em CECCHI, 2003), considerando que o teor de nitrogênio na maioria das proteínas é de 16%.

3.5.5 Determinação de cinzas totais

As cinzas foram determinadas por aquecimento da amostra em bico de *Bunsen* seguido de secagem em mufla (Coel, UL1400, São Paulo, SP, Brasil) a 550° C.

3.5.6 Determinação de carboidratos

A determinação de carboidratos foi calculada considerando a equação:

$$\text{Carboidratos (g)} = \text{Peso inicial da amostra (g)} - (\text{umidade (g)} + \text{gorduras (g)} + \text{proteínas (g)} + \text{cinzas totais (g)})$$

3.5.7 Determinação de fibras

A determinação de fibras foi realizada pelo método de Wendy de acordo com a *Association of Official Analytical Chemists*, no Laboratório de Nutrição Animal da Escola de Veterinária.

Os resultados da análise bromatológica e o percentual de carboidratos estão descritos na Tabela 3.1.

TABELA 3.1: Composição básica das dietas.

Composição	Dieta padrão	Dieta de alta palatabilidade
Densidade calórica (Kcal/100g)	335,2	309,3
Carboidrato (%)	54,6	54,8
Proteína (%)	23,8	13,2
Lipídeo (%)	5,2	5,7
Cinzas (%)	7,9	4,0
Umidade (%)	8,6	22,3
Fibra (%)	6,3	3,5

Composição da dieta de alta palatabilidade (g/100 g): 40 g de ração Labina Purina (carboidrato: 55 g; proteína: 23 g; lipídeo: 5 g); 40 g de leite condensado Moça, Nestlé® (carboidrato: 55 g; proteína: 7 g; lipídeo: 8 g); 11 g de sacarose (carboidrato: 99 g; proteína: 0 g; lipídeo: 0 g) e 9 g de água.

(Análise bromatológica realizada nas Escolas de Farmácia e Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais).

3.6 Massa corporal e ingestão alimentar

Os animais foram retirados do biotério e pesados entre 8 e 12 h em balança analítica (Filizola®) com precisão de 0,5 g a cada 48 h, durante 17 semanas de experimento. A medida da massa corporal dos animais foi utilizada para verificar possíveis

interferências da dieta, do treinamento físico e da administração ip. de TRP sobre esta variável. Além disso, a massa corporal foi usada como um índice de estado de saúde e de hidratação dos animais. A ingestão alimentar dos animais foi medida pela diferença de peso entre a ração fornecida e a ração restante no comedouro num intervalo de 48 h em balança analítica (Filizola[®]) com precisão de 0,5 g durante 17 semanas de experimento. A perda de umidade da dieta de alta palatabilidade foi medida e descontada do cálculo da ingestão alimentar.

3.7 Familiarização ao exercício físico

Na nona semana os ratos alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade foram submetidos a um protocolo de familiarização ao exercício físico em esteira motorizada (EP-131- Insight Equipamentos, Ribeirão Preto, SP, Brasil) durante cinco dias consecutivos. O protocolo consistiu em cinco minutos de repouso na esteira, seguidos de cinco minutos de exercício físico a uma velocidade de 10 m.min⁻¹ e 5° de inclinação. O objetivo da familiarização foi mostrar aos animais em qual direção deveriam correr e, dessa forma, garantir um desempenho mais estável na esteira (LACERDA *et al.*, 2005; PRIMOLA-GOMES *et al.*, 2007).

Durante a familiarização e todos os procedimentos experimentais, a temperatura ambiente foi medida por meio de um termistor (Yellow Spring Instruments, YSI-400^a, Sun River, OH, USA) posicionado dentro da câmara acrílica da esteira. A temperatura ambiente foi controlada em aproximadamente 24° C, por meio de um ar condicionado (Admiral, Springer Carrier S.A, Canoas, RS, Brasil) ou aquecedor (Philco Comfort, PRC), para prevenir interferências sobre o desempenho dos animais e variáveis medidas (RODRIGUES *et al.*, 2003; GUIMARAES *et al.*, 2011).

3.8 Avaliação do desempenho físico

Para avaliar o desempenho físico, os animais foram submetidos a um teste de esforço progressivo até a interrupção voluntária (TP) (FIGURA 3.3) em esteira rolante (Collumbus Instruments, USA) em três diferentes momentos do experimento. O primeiro TP foi realizado 48 h após a última sessão de familiarização ao exercício físico, o segundo, 48 h após a última sessão de treinamento físico da quarta semana e o último, 48 h após a última sessão do treinamento físico. O TP iniciou-se a uma velocidade de $10 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$ acrescido de $1 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$ a cada 3 minutos, e inclinação da esteira em 5° (adaptado de VERAS-SILVA *et al.*, 1997). O estímulo elétrico, posicionado ao final da esteira, foi ajustado a uma intensidade de aproximadamente 0,5 mA, o qual acarreta apenas em desconforto ao animal. O desempenho físico no TP foi determinado pelo momento no qual o animal interrompeu a corrida voluntariamente, permanecendo por 10 segundos consecutivos na grade de estimulação elétrica (LIMA *et al.*, 1998). O tempo de exercício (TE) e o trabalho realizado foram considerados índices de desempenho físico dos animais. A velocidade máxima de corrida (V_{max}) foi determinada e considerada aquela em que o animal se encontrava no momento logo antes da interrupção do exercício.

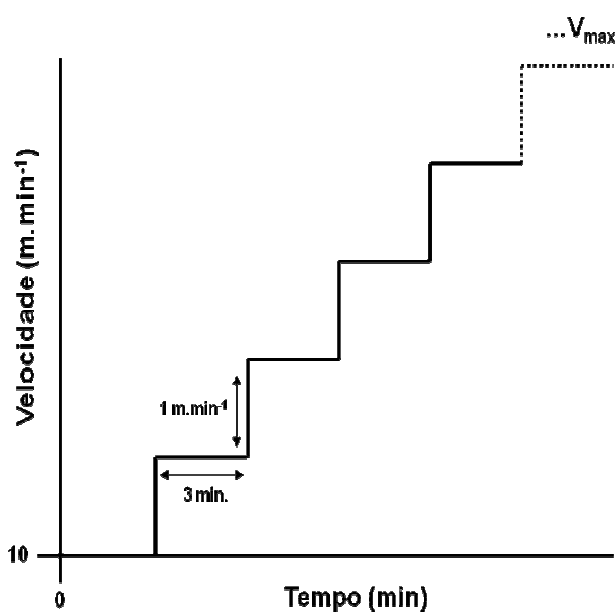


FIGURA 3.3: Representação esquemática do teste de esforço progressivo (TP). FONTE: do próprio autor.

3.9 Protocolo de treinamento físico

Os animais foram submetidos a um protocolo de treinamento físico em esteira durante oito semanas, com sessões diárias de corrida até que fossem capazes de correr durante 60 min/ dia, cinco dias/ semana (PRIVIERO *et al.*, 2004). As sessões de treinamento foram realizadas entre 8 e 12 h. A V_{max} no TP foi utilizada para determinar a intensidade relativa do exercício nas oito semanas de treinamento físico, uma vez que existe correlação direta entre o pico máximo de consumo de oxigênio e a velocidade máxima de corrida atingida em um teste de esforço progressivo máximo (EVANGELISTA *et al.*, 2005). O treinamento físico foi de intensidade e duração progressivas, levando em consideração o princípio da individualidade. A figura 3.4 apresenta cronologicamente as características do protocolo de treinamento físico.

1° TP	Determinação da velocidade máxima de corrida (V_{max}) e do trabalho realizado (kgm)
1ª semana	- 45% da V_{max} do 1° TP 30 minutos/ dia .
2ª semana	- 45% da V_{max} do 1° TP 1° e 2° dias: 40 minutos 3° e 4° dias: 45 minutos 5° dia: 50 minutos
3ª semana	- 65% da V_{max} do 1° TP 1° dia: 50 minutos 2° e 3° dias: 55 minutos 4° e 5° dias: 60 minutos
4ª semana	- 65% da V_{max} do 1° TP 1° ao 5° dia: 60 minutos
2° TP	Determinação da velocidade máxima de corrida (V_{max}) e do trabalho realizado (kgm)
5ª semana	- 65% da V_{max} do 2° TP 1° ao 5° dia: 60 minutos
6ª semana	- 65% da V_{max} do 2° TP 1° ao 5° dia: 60 minutos
7ª semana	- 65% da V_{max} do 2° TP 1° ao 5° dia: 60 minutos
8ª semana	- 65% da V_{max} do 2° TP 1° ao 5° dia: 60 minutos
3° TP	Determinação da velocidade máxima de corrida (V_{max}) e do trabalho realizado (kgm)

FIGURA 3.4: Características do protocolo de treinamento físico. TP= Teste de esforço progressivo; V_{max} = velocidade máxima de corrida.

Para assegurar que todos os animais fossem submetidos aos mesmos procedimentos de manipulação, os ratos não treinados realizaram o exercício físico em esteira durante cinco minutos em intensidade de 45% da velocidade máxima atingida nos testes de esforço progressivos (TPs), o que não seria suficiente para provocar adaptações fisiológicas esperadas com o treinamento físico.

3.10 Administração ip. de L-triptofano

Nas quatro últimas semanas de treinamento físico, logo após o término de cada sessão de corrida, os animais recebiam uma injeção ip. de TRP (1,0 M) (Sigma, USA) ou SAL (0,15 M) na dose de 100 mg. Kg⁻¹ de massa corporal (Coskun *et al.*, 2006), três vezes por semana, com um intervalo de 48 h entre cada uma.

3.11 Índice de Lee

O Índice de Lee foi calculado de acordo com a equação proposta por Lee (1929):

$$W^{1/3} \div L,$$

onde W é a massa corporal (g) e L é o comprimento nasoanal (cm). Neste caso, foi utilizada a massa corporal medida logo antes e do comprimento nasoanal logo após o último TP. Esse índice indica o grau de obesidade dos animais (STEPHENS, 1980).

3.12 Eutanásia dos animais e colheita de amostras sanguíneas e teciduais

Os animais foram eutanasiados por decapitação em uma guilhotina (Insight Equipamentos, Ribeirão Preto, SP, Brasil) 48 h após o último TP. Os cérebros foram imediatamente removidos e imersos em solução salina (0,15 M) resfriada. Em seguida, os cérebros foram congelados em nitrogênio líquido para retirada das áreas cerebrais: hipocampo e hipotálamo. As áreas cerebrais dissecadas foram separadas em microtubos (Eppendorfs) de 0,5 mL (SOARES *et al.*, 2007) colocados em nitrogênio líquido para serem transferidos e armazenados em freezer a -80° C para análises posteriores das concentrações de 5-HT, 5-HIAA, dopamina (DA), e 3,4- ácido diidroxifenilacético (DOPAC) por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC, Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão).

O sangue foi colhido, logo após a decapitação, num tubo de ensaio contendo citrato. Em seguida, o sangue foi transferido para microtubos (eppendorfs) de 1,5 mL e centrifugado (SIGMA, 230 V, 50/60 Hz) a uma aceleração de 725 x g por 20 minutos e temperatura de 4°C. Após a centrifugação, o plasma foi pipetado e armazenado em refrigerador a -20°C para posterior análise da concentração de glicose, triacilglicerol, colesterol, insulina e leptina. Além disso, os coxins adiposos (retroperitoneal, mesentérico e epididimal) foram retirados e pesados em balança com precisão de 0,001g.

3.13 Variáveis medidas

3.13.1 Massa corporal e Ingestão alimentar (descritas no item 3.5).

3.13.2 Comprimento nasoanal

O comprimento nasoanal foi realizado utilizando uma régua com precisão de 0,1 cm após a realização do 3º TP. O animal foi posicionado em decúbito dorsal e a régua colocada ventralmente sobre toda a linha sagital. Esta medida foi utilizada para o cálculo do Índice de Lee.

3.13.3 Concentrações cerebrais de 5-HT, 5-HIAA, DA e DOPAC.

As concentrações cerebrais de 5-HT, 5-HIAA, DA e DOPAC foram determinadas pelo método de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC, Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão) nas áreas cerebrais do hipocampo e hipotálamo, segundo a técnica descrita em Szawka *et al.* (2010). Em resumo, o sistema de HPLC foi equipado com uma coluna de 250 x 4 mm C18 (Purospher, 5 m; Merck, Darmstadt, Germany), precedida por uma pré coluna 4 x 4 mm C18 em fase reversa. O potencial elétrico aplicado foi de 850 mV sobre o eletrodo de referência de Ag/AgCl. A fase móvel consistia de 100 mM de NaH₂PO₄, 10mM de cloreto de sódio, 0,1mM de EDTA, 0,14 mM de ácido octanosulfônico, 990 ml água miliQ e 11% de metanol filtrado; pH 3,5. A solução foi filtrada e bombeada pelo sistema numa taxa de fluxo de 0,45 mL.min⁻¹. Os tecidos cerebrais foram homogeneizados em 100 µL de ácido perclórico (0,1 M) e 0,1 mM de EDTA adicionado a 7,5 mg de 3,4 dihidroxibenzilamina (DHBA) (padrão interno, Aldrich, Milwaukee, MI) e centrifugados a 12000 x g por 20 min a 4°C. O sobrenadante

foi, então, filtrado através de membrana Millipore (0,22 μ poro; 13 mm; Millex, SP, Brasil). Vinte microlitros foram injetados no sistema HPLC-EC para análise. A quantificação de 5-HT, 5-HIAA, DA e DOPAC foi feita pela comparação do pico ao da curva padrão. O conteúdo de proteína foi determinado por meio do pellet remanescente pelo método de Bradford (BRADFORD, 1976). Todas as amostras de cada área cerebral foram medidas em mesma análise e fase móvel. O coeficiente de variação intraensaio em triplicata foi de 2,8% para 5HT, 1,6% para 5HIAA, 2,2% para DA e 2,9% para DOPAC. A concentração de 5-HT e DA foi considerada como a quantidade de neurotransmissor presente na amostra, independente se foi liberada ou se estava encapsulada. A razão entre os metabólitos (5HIAA ou DOPAC) e os neurotransmissores (5-HT ou DA) foi usada para estimar o “*turnover*” dos dois sistemas.

3.13.4 Concentrações plasmáticas de insulina e leptina

As concentrações plasmáticas de insulina e leptina foram medidas pelo método de radioimunoensaio (LINCO Research, St Charles, MO – USA).

3.13.5 Concentrações plasmáticas de glicose, triacilglicerol e colesterol total

As concentrações plasmáticas de glicose, triacilglicerol e colesterol total foram quantificadas pelo método enzimático colorimétrico (Labtest, Lagoa Santa, MG – Brasil).

3.14 Variáveis de controle

3.14.1 Temperatura ambiente (°C)

Em todo o delineamento experimental, a temperatura seca do ambiente foi controlada em aproximadamente 24°C. A escolha da temperatura ambiente tem como finalidade a reprodução de condições ambientais de estudos anteriores (LIMA *et al.*, 1998; SOARES *et al.*, 2003, 2004, 2007; RODRIGUES *et al.*, 2008; CORDEIRO, 2012).

3.15 Variáveis calculadas

3.15.1 Trabalho durante teste de esforço progressivo

O trabalho realizado no TP foi calculado pelo somatório do trabalho (Kgm) encontrado em cada estágio de três minutos, de acordo com a equação proposta por Brooks e White (1978):

$$\text{Trabalho (kgm)} = \sum(P \cdot m/\text{min} \cdot \text{seno } \theta \cdot T)$$

Onde:

P: massa corporal do rato (Kg);

m/min: velocidade da esteira rolante;

seno θ : seno do ângulo de inclinação da esteira rolante;

T= tempo, duração do intervalo em minutos de cada estágio.

3.15.2 Eficiência energética

A eficiência energética foi calculada pela razão entre a variação da massa corporal média semanal e o consumo energético (kcal) médio semanal, dividido por sete dias da semana.

3.15.3 Índice de Lee (descrito no item 3.6)

3.16 Análise estatística

Todos os resultados foram expressos em média \pm erro padrão. O pacote estatístico utilizado foi o SigmaPlot 11.0.

Foi realizado Teste-*t* de Student para comparação da variação da ingestão alimentar, variação da massa corporal, eficiência energética após nove semanas de protocolo experimental e variáveis de desempenho físico no 1º TP entre os grupos DP e DAP.

Para avaliar o efeito da injeção de TRP sobre a variação da ingestão alimentar, variação da massa corporal, peso do tecido adiposo, concentração de 5-HT e 5-HIAA e da relação 5-HIAA/5-HT de animais treinados e não treinados alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade foi utilizada análise de variância para três fontes de variação (ANOVA *three-way*) seguida de teste *post-hoc* Student Newman Keuls (SNK) ou Fisher LSD para coeficiente de variação menor e maior que 30%, respectivamente.

O efeito de oito semanas de treinamento físico sobre a variação da ingestão alimentar, a variação da massa corporal, o peso de tecido adiposo, as concentrações plasmáticas de glicose, triacilglicerol, colesterol, insulina e leptina, as concentrações de monoaminas no hipotálamo e hipocampo e o desempenho físico no 3º TP foi verificado pela ANOVA *two-way* seguida de teste *post-hoc* SNK e Fisher LSD adotando o mesmo critério citado anteriormente.

Para verificação da associação entre as variáveis foi utilizada correlação de *Pearson*.

O nível de probabilidade adotado foi de $p \leq 0,05$.

4.0 RESULTADOS

4.1 Ingestão alimentar e massa corporal de animais alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade antes do treinamento físico

A figura 4.1 apresenta as variações da ingestão alimentar (A) e da massa corporal (B), calculadas pela diferença entre a 1ª e 9ª semana, nos grupos DP ou DAP. Ao final de nove semanas, a variação da ingestão alimentar e o ganho de massa corporal foram maiores nos ratos alimentados com a dieta de alta palatabilidade em comparação aos controles (FIGURA 4.1).

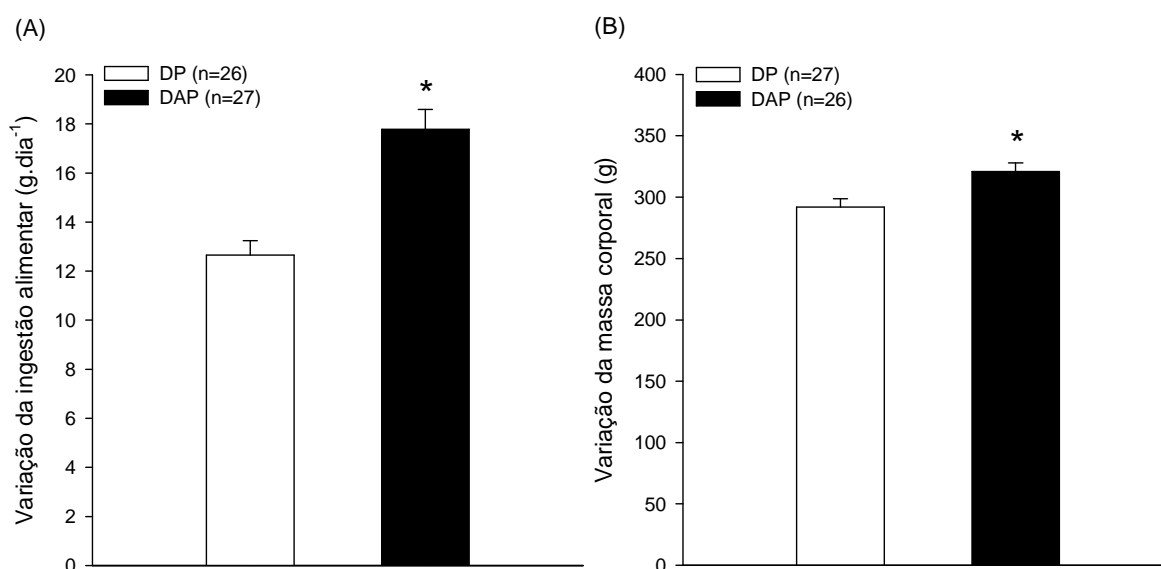


FIGURA 4.1: Efeito de nove semanas de dieta de alta palatabilidade na variação da ingestão alimentar (A) e da massa corporal (B) de ratos recém desmamados. Os dados estão expressos em média \pm EPM. * $p \leq 0,05$ em comparação ao controle (DP). Valores absolutos médios iniciais de ingestão alimentar e de massa corporal foram DP: $16,8 \pm 0,4 \text{ g.dia}^{-1}$ vs. DAP: $17,4 \pm 0,7 \text{ g.dia}^{-1}$; $p < 0,001$ e DP: $108,0 \pm 1,8 \text{ g}$ vs. DAP: $100,9 \pm 3,2 \text{ g}$; $p = 0,005$, respectivamente.

4.2 Eficiência energética de animais alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade antes do treinamento físico.

A figura 4.2 apresenta os valores da eficiência energética, calculada na 8ª semana de experimento, a qual corresponde ao momento anterior ao início da familiarização ao exercício físico na esteira, no grupo DP ou DAP. A eficiência energética foi maior ($p < 0,001$) no DAP em comparação ao controle (FIGURA 4.2).

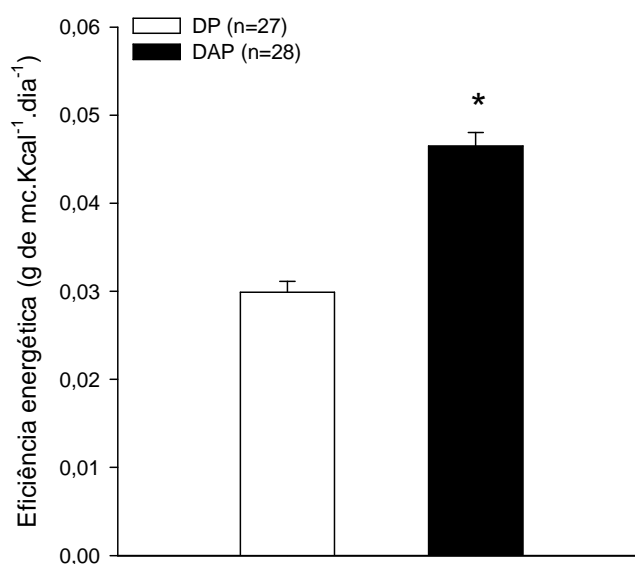


FIGURA 4.2: Eficiência energética em ratos recém desmamados tratados com dieta de alta palatabilidade durante oito semanas. Os dados estão expressos em média \pm EPM. * $p \leq 0,05$ em comparação ao controle.

4.3 Desempenho físico de animais alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade antes do treinamento físico.

Após nove semanas, os ratos alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade foram submetidos ao primeiro teste de esforço progressivo até a fadiga (1º TP) para determinar o desempenho físico antes do período de treinamento físico.

As variáveis relacionadas ao desempenho físico, tempo de exercício (TE), velocidade máxima (V_{max}) e trabalho não foram diferentes entre os grupos DAP e DP (TABELA 4.1).

TABELA 4.1: Massa corporal e desempenho físico medidos durante o primeiro teste de esforço progressivo até a fadiga realizado após nove semanas. Os dados estão expressos em média \pm EPM. * $p \leq 0,05$ em comparação ao controle (DP).

1º TP	DP (n = 28)	DAP (n = 28)	Valor de p (test t)
Massa corporal (g)	430,4 \pm 8,1	460,6 \pm 8,4 *	p = 0,01
Tempo de exercício (min)	42,8 \pm 2,2	40,1 \pm 1,6	p = 0,33
Velocidade máxima (m.min⁻¹)	23,8 \pm 0,7	23,1 \pm 0,6	p = 0,45
Trabalho (kgm)	26,8 \pm 1,8	26,0 \pm 1,4	p = 0,70

DP =dieta padrão; DAP =dieta de alta palatabilidade; TP= teste de esforço progressivo

4.4 Desempenho físico de animais alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade, treinados e não treinados com administração crônica de L-triptofano ou salina ip..

Ao final do treinamento físico, os ratos alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade, treinados ou não treinados que receberam injeção ip. de TRP ou SAL foram submetidos a um TP para verificar o desempenho físico.

A administração crônica de TRP ip. não alterou o desempenho físico de ratos alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade, tanto treinados quanto não treinados, em comparação aos controles SAL (TABELA 4.2).

TABELA 4.2: Efeito da administração crônica ip. de TRP sobre a massa corporal e o desempenho físico de ratos alimentados com dieta padrão ou dieta de alta palatabilidade, treinados ou não treinados. Os dados estão expressos em média \pm EPM. Foi utilizada Anova three-way para comparação entre os grupos.

3°TP	DP-NT-SAL (n = 7)	DP-NT-TRP (n = 7)	DP-T-SAL (n = 7)	DP-T-TRP (n = 7)	DAP-NT-SAL (n = 7)	DAP-NT-TRP (n = 7)	DAP-T-SAL (n = 7)	DAP-T-TRP (n = 7)
Massa corporal (g)	500,6 \pm 20,1	554,6 \pm 29,2	498,6 \pm 10,5	473,1 \pm 24,6	600,7 \pm 25,4*	589,3 \pm 38,1*	547,2 \pm 38,1*	566,7 \pm 17,6*
Tempo de exercício (min)	35,0 \pm 5,1	29,8 \pm 2,6	65,4 \pm 2,1 #	62,5 \pm 2,7 #	32,3 \pm 3,4	25,3 \pm 2,3	53,3 \pm 5,6 #	56,5 \pm 4,8 #
Velocidade máxima (m.min⁻¹)	21,3 \pm 1,7	19,8 \pm 0,6	31,4 \pm 0,8 #	30,3 \pm 0,9 #	20,4 \pm 1,1	17,9 \pm 0,8	27,3 \pm 1,9 #	28,3 \pm 1,6 #
Trabalho (kgm)	24,2 \pm 4,2	21,6 \pm 1,6	57,9 \pm 3,5 #	50,8 \pm 3,6 #	25,1 \pm 3,1	18,0 \pm 2,6	46,0 \pm 5,8 #	53,2 \pm 6,4 #

DP-NT-SAL=dieta padrão não treinado salina; DP-NT-TRP=dieta padrão não treinado triptofano; DP-T-SAL=dieta padrão treinado salina; DP-T-TRP=dieta padrão treinado triptofano; DAP-NT-SAL=dieta de alta palatabilidade não treinado salina; DAP-NT-TRP=dieta de alta palatabilidade não treinado triptofano; DAP-T-SAL=dieta de alta palatabilidade treinado salina; DAP-T-TRP=dieta de alta palatabilidade treinado triptofano; TP= teste de esforço progressivo até a interrupção voluntária. * $p \leq 0,05$ em comparação ao respectivo controle da dieta de alta palatabilidade. # $p \leq 0,05$, em comparação ao respectivo controle do treinamento físico.

TABELA 4.3: Efeito da administração crônica ip. de TRP sobre a variação da ingestão alimentar e da massa corporal de ratos alimentados com dieta padrão ou dieta de alta palatabilidade, treinados ou não treinados. Os dados estão expressos em média \pm EPM. Foi utilizada three-way para comparação entre os grupos.

	DP-NT-SAL (n = 7)	DP-NT-TRP (n = 7)	DP-T-SAL (n = 7)	DP-T-TRP (n = 7)	DAP-NT-SAL (n = 7)	DAP-NT-TRP (n = 7)	DAP-T-SAL (n = 7)	DAP-T-TRP (n = 7)
Variação da ingestão alimentar (g)	-0,3 \pm 0,5	0,5 \pm 0,6	-0,5 \pm 0,4	0,4 \pm 0,9	2,1 \pm 0,9	-0,5 \pm 1,7	-1,4 \pm 2,0	-0,4 \pm 1,3
Variação da massa corporal (g)	32,6 \pm 2,9	42,0 \pm 4,2	21,8 \pm 4,5	21,5 \pm 5,0	63,7 \pm 4,3	62,7 \pm 8,1	37,2 \pm 6,3	39,4 \pm 4,5

DP-NT-SAL=dieta padrão não treinado salina; DP-NT-TRP=dieta padrão não treinado triptofano; DP-T-SAL=dieta padrão treinado salina; DP-T-TRP=dieta padrão treinado triptofano; DAP-NT-SAL=dieta de alta palatabilidade não treinado salina; DAP-NT-TRP=dieta de alta palatabilidade não treinado triptofano; DAP-T-SAL=dieta de alta palatabilidade treinado salina; DAP-T-TRP=dieta de alta palatabilidade treinado triptofano. Valores iniciais absolutos de ingestão alimentar (DP-NT + SAL: 28,7 \pm 0,7; DP-NT + TRP: 30,7 \pm 1,5; DP-T + SAL: 28,4 \pm 0,9; DP-T + TRP: 26,8 \pm 1,2; DAP-NT + SAL: 32,8 \pm 2,9; DAP-NT + TRP: 37,1 \pm 3,4; DAP-T + SAL: 34,3 \pm 3,1; DAP-T + TRP: 33,2 \pm 2,6). Valores iniciais absolutos de massa corporal (DP-NT + SAL: 459,0 \pm 17,5; DP-NT + TRP: 499,0 \pm 26,2; DP-T + SAL: 465,3 \pm 11,2; DP-T + TRP: 446,0 \pm 23,3; DAP-NT + SAL: 511,4 \pm 22,4; DAP-NT + TRP: 508,3 \pm 30,9; DAP-T + SAL: 520,6 \pm 21,6 , DAP-T + TRP: 514,9 \pm 12,7).

4.5 Ingestão alimentar e massa corporal de animais alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade, treinados e não treinados com administração crônica de L-triptofano ou salina ip..

A administração crônica de TRP ip não alterou a ingestão alimentar e a massa corporal, calculadas pela diferença entre a 13^a e a 17^a semana de experimento, de ratos alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade, treinados ou não treinados em comparação aos controles SAL (TABELA 4.3).

4.6 Concentrações de 5-HT e 5-HIAA e a relação 5-HIAA/5-HT no hipotálamo e no hipocampo de animais alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade, treinados ou não treinados com administração crônica de L-triptofano ou salina ip..

As concentrações de 5-HT e seu metabólito, além da relação 5-HIAA/5-HT no hipotálamo e hipocampo não foram alteradas pela administração crônica de TRP ip em ratos alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade, treinados ou não treinados em comparação aos controles SAL (TABELA 4.4).

Tabela 4.4: Efeito da administração crônica de TRP ip. nas concentrações de 5-HT, 5-HIAA e a razão 5-HIAA/5-HT no hipotálamo e no hipocampo de ratos alimentados com dieta padrão ou dieta de alta palatabilidade, treinados ou não treinados. Os dados estão expressos em média \pm EPM.

	DP-NT-SAL	DP-NT-TRP	DP-T-SAL	DP-T-TRP	DAP-NT-SAL	DAP-NT-TRP	DAP-T-SAL	DAP-T-TRP
<u>HIPOTÁLAMO</u>								
5-HT (pg. μ g ⁻¹)	3,27 \pm 0,42 (n=7)	4,22 \pm 0,66 (n=6)	4,15 \pm 0,64 (n=7)	4,28 \pm 0,54 (n=7)	6,29 \pm 1,50 (n=7)	4,63 \pm 0,13 (n=6)	5,71 \pm 1,62 (n=6)	3,37 \pm 0,47 (n=6)
5-HIAA (pg. μ g ⁻¹)	2,61 \pm 0,27 (n=7)	3,17 \pm 0,42 (n=6)	3,43 \pm 0,75 (n=7)	2,52 \pm 0,23 (n=6)	4,23 \pm 1,04 (n=7)	3,80 \pm 0,63 (n=6)	4,78 \pm 1,61 (n=6)	2,91 \pm 0,56 (n=6)
5-HIAA / 5 HT	0,82 \pm 0,05 (n=7)	0,77 \pm 0,04 (n=7)	0,81 \pm 0,08 (n=7)	0,70 \pm 0,05 (n=7)	0,67 \pm 0,03 (n=7)	0,79 \pm 0,10 (n=7)	0,90 \pm 0,24 (n=6)	0,83 \pm 0,10 (n=7)
<u>HIPOCAMPO</u>								
5-HT (pg. μ g ⁻¹)	3,44 \pm 0,66 (n=7)	2,85 \pm 0,47 (n=7)	3,49 \pm 0,90 (n=7)	3,45 \pm 0,95 (n=7)	3,60 \pm 1,23 (n=7)	4,10 \pm 0,62 (n=6)	3,58 \pm 0,86 (n=6)	3,20 \pm 0,91 (n=7)
5-HIAA (pg. μ g ⁻¹)	4,33 \pm 0,54 (n=7)	3,81 \pm 0,37 (n=7)	4,02 \pm 0,55 (n=7)	3,81 \pm 0,63 (n=7)	3,81 \pm 0,83 (n=7)	4,66 \pm 0,53 (n=7)	4,11 \pm 0,55 (n=6)	3,40 \pm 0,71 (n=7)
5-HIAA/5-HT	1,31 \pm 0,15 (n=6)	1,46 \pm 0,14 (n=7)	1,41 \pm 0,19 (n=7)	1,47 \pm 0,25 (n=7)	1,49 \pm 0,28 (n=7)	1,08 \pm 0,16 (n=7)	1,48 \pm 0,40 (n=6)	1,21 \pm 0,18 (n=7)

DP-NT-SAL=dieta padrão não treinado salina; DP-NT-TRP=dieta padrão não treinado triptofano; DP-T-SAL=dieta padrão treinado salina; DP-T-TRP=dieta padrão treinado triptofano; DAP-NT-SAL=dieta de alta palatabilidade não treinado salina; DAP-NT-TRP=dieta de alta palatabilidade não treinado triptofano; DAP-T-SAL=dieta de alta palatabilidade treinado salina; DAP-T-TRP=dieta de alta palatabilidade treinado triptofano.

Em função da administração crônica de TRP ip. não ter modificado nenhuma das variáveis analisadas neste estudo (ingestão alimentar, massa corporal, desempenho físico, concentrações centrais de 5-HT e 5-HIAA e a relação 5-HIAA/5-HT) em comparação aos controles, todos os resultados apresentados a partir de agora foram agrupados considerando os fatores dieta e treinamento físico.

4.7 Desempenho físico de animais alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade após oito semanas de treinamento físico.

Após oito semanas, os ratos alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade, treinados e não treinados foram submetidos ao 3° TP para verificar o efeito do treinamento sobre as variáveis de desempenho físico.

As oito semanas de treinamento aumentaram o desempenho físico do DP-T e do DAP-T em comparação aos controles (TABELA 4.5).

TABELA 4.5: Efeito de oito semanas de treinamento sobre a massa corporal e o desempenho físico de ratos alimentados com dieta padrão (DP) ou dieta de alta palatabilidade (DAP). Os dados estão expressos em média \pm EPM. * $p \leq 0,05$ em comparação ao controle para dieta. # $p \leq 0,05$ em comparação ao controle para treinamento físico.

3°TP	DP-NT (n = 14)	DP-T (n = 14)	DAP-NT (n = 14)	DAP-T (n = 13)
Massa corporal (g)	527,6 \pm 18,6	485,8 \pm 13,3	595,0 \pm 22,1 *	557,0 \pm 15,2 *
Tempo de exercício (min)	34,1 \pm 2,4	63,9 \pm 1,7 #	27,2 \pm 1,7 *	57,2 \pm 2,9 * #
Velocidade máxima (m.min⁻¹)	21,0 \pm 1,0	31,0 \pm 1,0 #	19,0 \pm 1,0 *	29,0 \pm 1,0 * #
Trabalho (kgm)	22,9 \pm 1,4	54,3 \pm 2,6 #	20,1 \pm 1,8	49,6 \pm 4,3 #

DP-NT =dieta padrão não treinado; DP-T=dieta padrão treinado; DAP-NT =dieta de alta palatabilidade; DAP-T=dieta de alta palatabilidade treinado; TP= teste de esforço progressivo até a interrupção voluntária.

4.8 Ingestão alimentar e massa corporal de animais alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade, treinados e não treinados.

A figura 4.3 apresenta as variações da ingestão alimentar (A) e da massa corporal (B), calculadas pela diferença entre a 9ª e a 17ª semana de experimento, as quais correspondem às situações pré e pós-treinamento, em ratos alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade submetidos a oito semanas de treinamento.

Não houve diferença na variação da ingestão alimentar nos ratos alimentados com dieta de alta palatabilidade em comparação aos controles, tanto nos não treinados ($p = 0,12$), quanto nos treinados ($p = 0,61$). No entanto, o treinamento físico reduziu a ingestão alimentar nos ratos alimentados com dieta padrão em comparação aos

controles ($p = 0,007$), assim como nos ratos alimentados com dieta de alta palatabilidade ($p < 0,001$).

Além disso, o treinamento físico diminuiu o ganho de massa corporal tanto nos ratos alimentados com dieta padrão em comparação aos controles ($p < 0,004$) quanto naqueles alimentados com dieta de alta palatabilidade ($p < 0,001$).

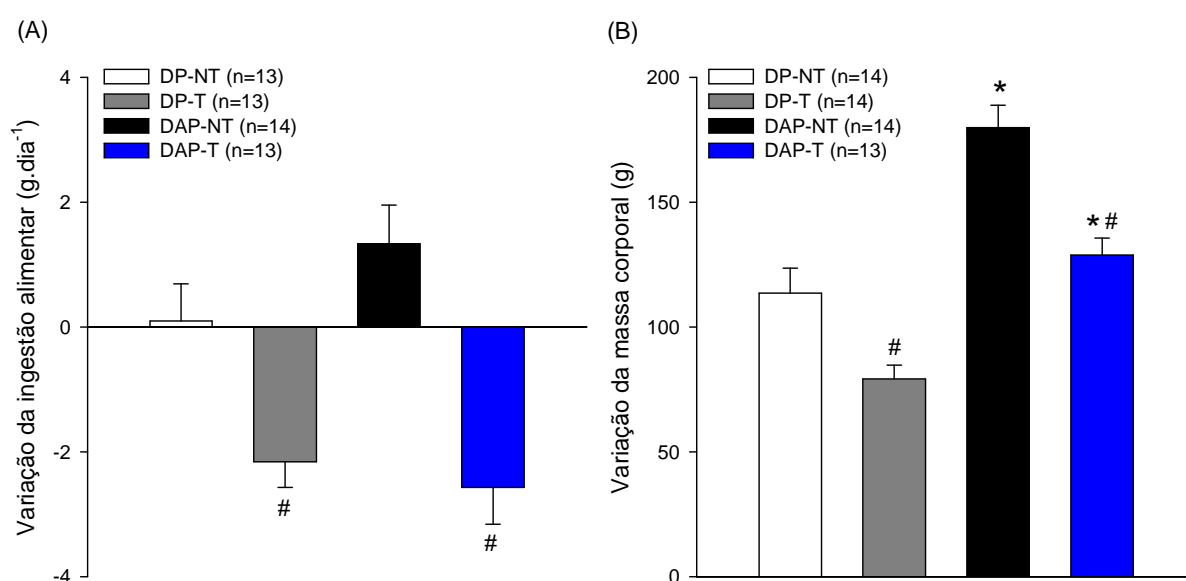


FIGURA 4.3: Efeito do treinamento físico sobre a ingestão alimentar (A) e o ganho de massa corporal (B) de ratos alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade em comparação aos controles. Os dados estão expressos em média \pm EPM. * $p \leq 0,05$ em comparação ao controle para dieta de alta palatabilidade. # $p \leq 0,05$ em comparação ao controle para treinamento físico. Valores iniciais de ingestão alimentar (DP-NT: $29,8 \pm 0,8$ g, vs. DP-T: $29,3 \pm 0,7$ g, vs. DAP-NT: $34,4 \pm 1,2$ g, vs. DAP-T: $34,6 \pm 1,3$ g) e de massa corporal (DP-NT: $405,5 \pm 10,4$ g, vs. DP-T: $401,6 \pm 11,7$ g, vs. DAP-NT: $415,3 \pm 11,2$ g, vs. DAP-T: $435,5 \pm 8,5$ g).

4.9 Eficiência energética de animais alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade, treinados e não treinados.

A figura 4.4 apresenta a eficiência energética, da 17^a semana de experimento, em ratos alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade submetidos a oito semanas de treinamento e em seus respectivos controles.

A eficiência energética foi maior em ratos alimentados com dieta de alta palatabilidade em comparação aos respectivos controles, após 17 semanas de experimento, tanto nos não treinados (DP-NT: $0,014 \pm 0,001 \text{ g.Kcal}^{-1}.\text{dia}^{-1}$, vs. DAP-NT: $0,025 \pm 0,002 \text{ g.Kcal}^{-1}.\text{dia}^{-1}$; $p < 0,001$) quanto nos treinados (DP-T: $0,007 \pm 0,002 \text{ g.Kcal}^{-1}.\text{dia}^{-1}$ vs. DAP-T: $0,014 \pm 0,002 \text{ g.Kcal}^{-1}.\text{dia}^{-1}$; $p = 0,016$). Porém, o treinamento físico reduziu a eficiência energética nos ratos alimentados com dieta padrão em comparação aos controles (DP-NT: $0,014 \pm 0,001 \text{ g.Kcal}^{-1}.\text{dia}^{-1}$, vs. DP-T: $0,007 \pm 0,002 \text{ g.Kcal}^{-1}.\text{dia}^{-1}$; $p = 0,003$), assim como nos ratos alimentados com dieta de alta palatabilidade em comparação aos controles (DAP-NT: $0,025 \pm 0,002 \text{ g.Kcal}^{-1}.\text{dia}^{-1}$, vs. DAP-T: $0,014 \pm 0,002 \text{ g.Kcal}^{-1}.\text{dia}^{-1}$; $p < 0,001$).

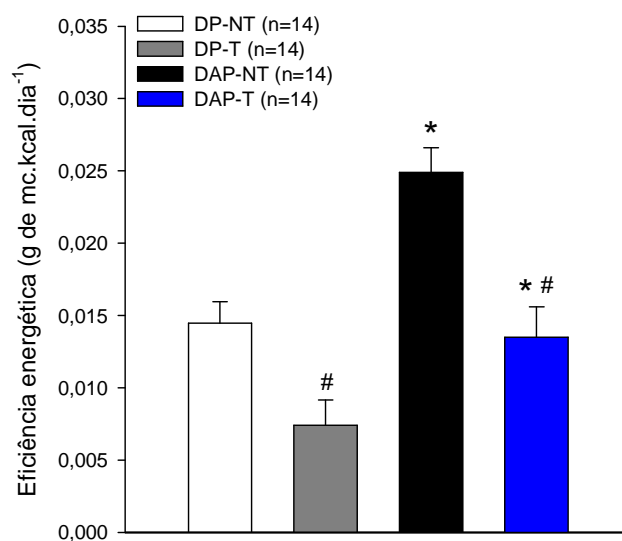


FIGURA 4.4: Efeito do treinamento físico sobre a eficiência energética de ratos alimentados com dieta padrão ou dieta de alta palatabilidade em comparação aos controles. Os dados estão expressos em média \pm EPM. * $p \leq 0,05$ em comparação ao controle da dieta de alta palatabilidade. # $p \leq 0,05$, em comparação ao controle do treinamento físico.

4.10 Correlação entre o trabalho realizado no 3° TP e a ingestão alimentar de animais alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade, treinados ou não treinados.

A figura 4.5 apresenta os valores das correlações entre o desempenho físico, avaliado pelo cálculo do trabalho no 3° TP, após oito semanas de treinamento, e a ingestão alimentar de ratos alimentados com dieta padrão não treinados (A) e treinados (B) e com dieta de alta palatabilidade não treinados (C) e treinados (D).

Nos ratos alimentados com dieta padrão não treinados, o desempenho físico não se correlacionou significativamente com a ingestão alimentar ($r=0,34$; $r^2=0,11$ e $p=0,23$), ao contrário dos treinados, nos quais houve correlação positiva entre as variáveis ($r=0,66$; $r^2=0,43$ e $p=0,010$). Além disso, nos ratos que foram alimentados com a dieta de alta palatabilidade não treinados não houve correlação significativa entre o desempenho físico e a ingestão alimentar ($r=0,09$; $r^2=0,008$ e $p=0,76$). No entanto, nos treinados as variáveis citadas correlacionaram-se negativamente ($r=-0,55$; $r^2=0,30$ e $p=0,043$).

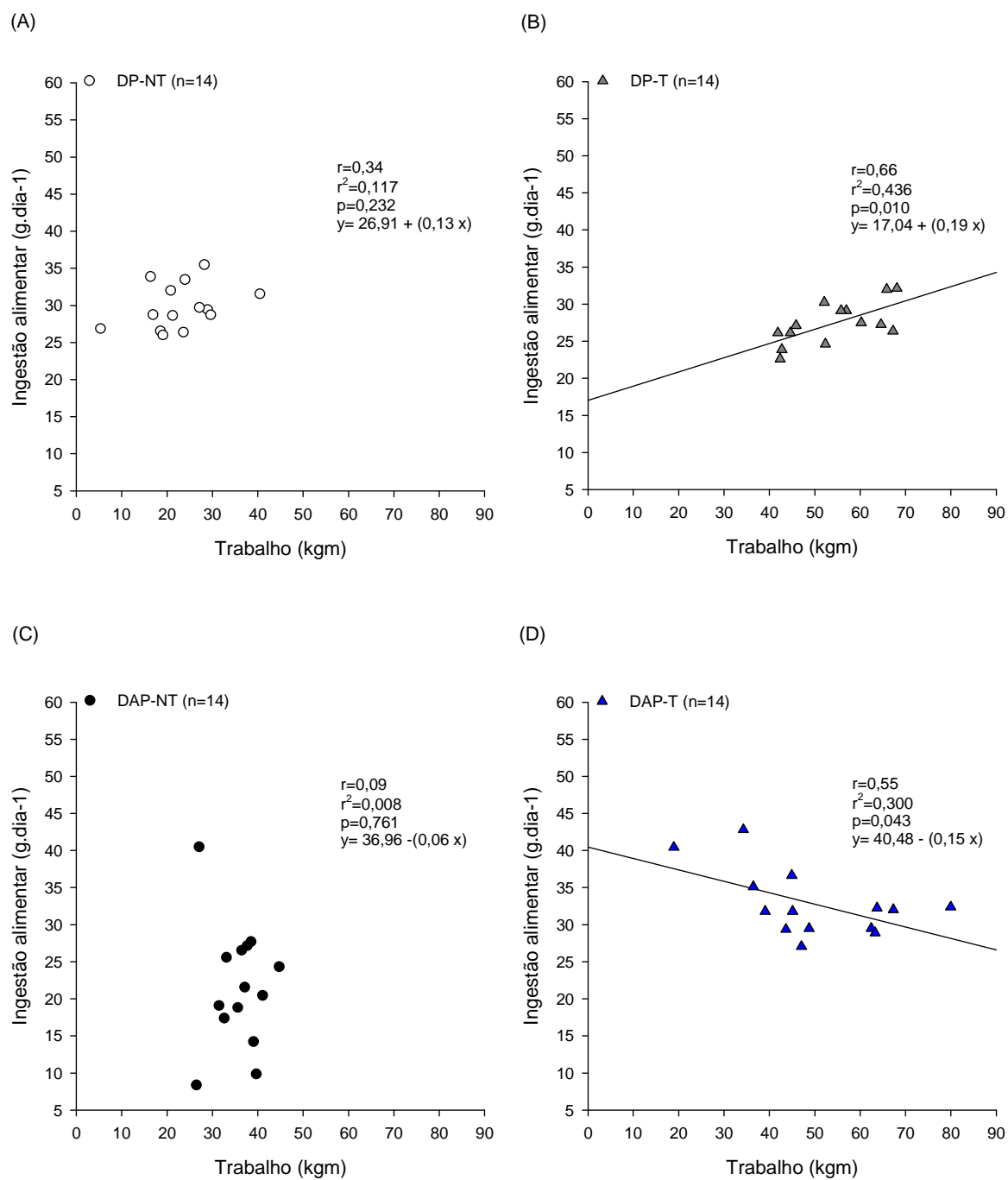


FIGURA 4.5: Correlação entre o desempenho físico e a ingestão alimentar de animais alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade, não treinados e treinados.

4.11 Concentrações plasmáticas de glicose, insulina, leptina, triacilglicerol e colesterol total de ratos alimentados com dieta padrão ou dieta de alta palatabilidade, treinados ou não treinados em repouso.

A tabela 4.6 apresenta as concentrações plasmáticas de glicose, insulina, leptina, triacilglicerol e colesterol total em ratos alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade, submetidos a oito semanas de treinamento físico e seus controles não treinados, após 17 semanas de experimento.

4.11.1 Concentração plasmática de glicose

A concentração plasmática de glicose no repouso não foi diferente entre os ratos alimentados com a dieta de alta palatabilidade em comparação aos alimentados com dieta padrão, tanto nos não treinados ($p = 0,18$), quanto nos treinados ($p = 0,53$). Além disso, o treinamento físico não alterou as concentrações de glicose em ratos alimentados com dieta padrão em comparação aos controles ($p = 0,54$) ou com dieta de alta palatabilidade ($p = 0,20$).

4.11.2 Concentração plasmática de insulina.

A concentração de plasmática insulina no repouso foi maior em ratos alimentados com dieta de alta palatabilidade em comparação ao controles, tanto em não treinados ($p = 0,006$), quanto nos treinados ($p = 0,01$). Porém, os ratos treinados não apresentaram diferenças nas concentrações de insulina em comparação aos respectivos controles, tanto na dieta padrão ($p = 0,91$), quanto na dieta de alta palatabilidade ($p = 0,74$).

4.11.3 Concentração plasmática de leptina.

Após 17 semanas, a concentração plasmática de leptina no repouso foi maior nos ratos alimentados com dieta de alta palatabilidade em comparação aos controles, tanto nos não treinados ($p = 0,003$), quanto nos treinados ($p = 0,006$). Entretanto, as oito semanas de treinamento físico não modificaram as concentrações de leptina no repouso nos ratos alimentados com dieta padrão em comparação aos controles ($p = 0,60$) ou com dieta de alta palatabilidade em comparação aos controles ($p = 0,491$).

4.11.4 Concentração plasmática de triacilglicerol.

Os ratos alimentados com a dieta de alta palatabilidade, tanto não treinados, quanto treinados, apresentaram uma maior concentração de triacilglicerol em comparação aos respectivos controles ($p = 0,03$ e $p = 0,009$, respectivamente). No entanto, o treinamento físico não modificou as concentrações de triacilglicerol em ratos alimentados com dieta padrão ($p = 0,70$) ou com dieta de alta palatabilidade ($p = 0,82$) em comparação aos controles.

4.11.5 Concentração plasmática de colesterol total.

Não houve diferença na concentração de colesterol total entre os animais tratados com dieta de alta palatabilidade em comparação aos controles nas situações não treinado ($p = 0,40$) e treinado ($p = 0,87$). Além disso, o treinamento físico não modificou a concentração plasmática de colesterol total nos ratos alimentados com dieta padrão em comparação aos controles ($p = 0,58$) ou com dieta de alta-palatabilidade em comparação aos controles ($p = 0,13$).

TABELA 4.6: Concentrações plasmáticas de glicose, insulina, leptina, triacilglicerol e colesterol total em ratos alimentados com dieta padrão ou dieta de alta palatabilidade, treinados ou não treinados, após o repouso. Os dados estão expressos em média \pm EPM.

	DP-NT	DP-T	DAP-NT	DAP-T
Glicose plasmática (mg.dL⁻¹)	135,5 \pm 3,0	132,8 \pm 3,1	141,3 \pm 3,1	135,6 \pm 3,1
Insulina plasmática (ng.mL⁻¹)	3,1 \pm 0,5	3,0 \pm 0,3	5,0 \pm 0,6 *	4,8 \pm 0,5 *
Leptina plasmática (ng.mL⁻¹)	11,1 \pm 1,3	8,0 \pm 0,3	29,9 \pm 6,0 *	25,7 \pm 6,2 *
Triacilglicerol plasmático (mg.dL⁻¹)	148,9 \pm 15,0	140,8 \pm 15,0	195,0 \pm 15,5 *	199,9 \pm 15,5 *
Colesterol total plasmático(mg.dL⁻¹)	93,6 \pm 6,9	88,1 \pm 7,2	102,0 \pm 7,2	86,4 \pm 7,2

DP-NT =dieta padrão não treinado; DP-T=dieta padrão treinado; DAP-NT=dieta de alta palatabilidade não treinado; DAP-T=dieta de alta palatabilidade treinado. * = $p \leq 0,05$ em comparação ao controle da dieta de alta palatabilidade.

4.12 Tecidos adiposos retroperitoneal, mesentérico, epididimal, índice de adiposidade, músculo gastrocnêmio e índice de Lee de animais alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade treinados e não treinados.

A tabela 4.7 apresenta as massas dos tecidos adiposos retroperitoneal, mesentérico, do epididimal, massa do músculo gastrocnêmio, índices de adiposidade e de Lee de ratos alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade, submetidos a oito semanas de treinamento físico e seus controles não treinados, após 17 semanas de experimento.

Nos ratos alimentados com a dieta de alta palatabilidade, os coxins dos tecidos adiposos; retroperitoneal, mesentérico e epididimal foram maiores tanto nos não treinados ($p = 0,007$; $p < 0,001$; $p < 0,001$; respectivamente), quanto nos treinados em comparação aos controles ($p < 0,001$; $p < 0,001$; $p = 0,002$; respectivamente). Consequentemente, o índice de adiposidade, calculado pela soma dos valores das três áreas retiradas, foi maior nos ratos alimentados com a dieta de alta palatabilidade não treinados ($p < 0,001$) e treinados ($p < 0,001$) em comparação aos respectivos controles.

O treinamento físico não alterou a massa de nenhum dos tecidos; retroperitoneal, mesentérico e epididimal nos ratos alimentados com dieta padrão em comparação aos controles ($p = 0,07$; $p = 0,14$; $p = 0,86$) ou com dieta de alta palatabilidade ($p = 0,83$; $p = 0,31$; $p = 0,07$; respectivamente). Consequentemente, o índice de adiposidade não foi diferente entre os ratos alimentados com dieta padrão treinados em comparação aos controles ($p = 0,13$) ou com dieta de alta palatabilidade treinados ($p = 0,47$).

A massa do músculo gastrocnêmio não foi diferente entre os grupos nas comparações de dieta ($p=0,83$) ou treinamento ($p=0,32$).

O índice de Lee não foi diferente entre os quatro grupos. No entanto a análise de variância demonstrou uma redução em animais treinados em comparação aos não treinados ($p=0,046$) quando o fator treinamento físico foi analisado isoladamente.

TABELA 4.7: Tecido adiposo total, retroperitoneal, mesentérico, epididimal, músculo gastrocnêmio, índice de Lee de ratos alimentados com dieta padrão ou dieta de alta palatabilidade, treinados ou não treinados, após o repouso. Os dados estão expressos em média \pm EPM.

	DP-NT	DP-T	DAP-NT	DAP-T
Tecido adiposo retroperitoneal (g.100g⁻¹)	1,87 \pm 0,15	1,38 \pm 0,14	2,95 \pm 0,25 *	2,89 \pm 0,20 *
Tecido adiposo mesentérico (g.100g⁻¹)	0,88 \pm 0,08	0,66 \pm 0,08	1,31 \pm 0,14 *	1,15 \pm 0,11 *
Tecido adiposo epididimal (g.100g⁻¹)	1,63 \pm 0,14	1,59 \pm 0,10	2,96 \pm 0,21 *	2,52 \pm 0,18 *
Índice de adiposidade (g.100g⁻¹)	4,35 \pm 0,33	3,57 \pm 0,28	7,07 \pm 0,36 *	6,69 \pm 0,45 *
Músculo gastrocnêmio (g.100g⁻¹)	1,14 \pm 0,04	1,20 \pm 0,04	1,14 \pm 0,09	1,24 \pm 0,14
Índice de Lee	0,307 \pm 0,003	0,300 \pm 0,002	0,307 \pm 0,003	0,301 \pm 0,003

DP-NT =dieta padrão não treinado; DP-T=dieta padrão treinado; DAP-NT=dieta de alta palatabilidade não treinado; DAP-T=dieta de alta palatabilidade treinado * = $p \leq 0,05$ em comparação ao controle da dieta de alta palatabilidade.

4.13 Concentrações de 5-HT e 5-HIAA e a relação 5-HIAA/5-HT no hipotálamo de animais alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade, treinados ou não treinados, em repouso.

A figura 4.6 apresenta as concentrações de 5-HT (A) e 5-HIAA (B) e a relação 5-HIAA/5-HT (C) no hipotálamo de ratos alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade, submetidos a oito semanas de treinamento físico e seus controles não treinados, após 17 semanas de experimento.

No hipotálamo, não houve diferença nas concentrações de 5-HT nos ratos alimentados com dieta de alta palatabilidade em comparação aos alimentados com dieta padrão, tanto entre treinados ($p > 0,05$) quanto entre não treinados ($p > 0,05$). Além disso, o treinamento físico de oito semanas não modificou as concentrações de repouso do neurotransmissor 5-HT nos ratos alimentados com dieta padrão em comparação aos controles ($p > 0,05$), assim como nos ratos alimentados com dieta de alta palatabilidade ($p > 0,05$).

A análise de variância mostrou que a concentração de 5-HIAA no hipotálamo foi maior nos ratos alimentados com dieta de alta palatabilidade em comparação aos controles quando o fator dieta foi verificado isoladamente ($p = 0,03$). Porém, o treinamento físico não alterou as concentrações de 5-HIAA nos ratos alimentados com dieta padrão em comparação aos controles ($p = 0,95$) ou nos ratos alimentados com dieta de alta palatabilidade ($p = 0,43$).

A relação 5-HIAA/5-HT no hipotálamo não foi diferente entre os ratos alimentados com a dieta de alta palatabilidade em comparação aos controles alimentados com dieta padrão treinados ($p > 0,05$) ou não treinados ($p > 0,05$). Além disso, o treinamento físico não modificou essa relação nos ratos alimentados com a dieta padrão ($p > 0,05$) ou com a dieta de alta palatabilidade em comparação aos controles ($p > 0,05$).

HIPOTÁLAMO

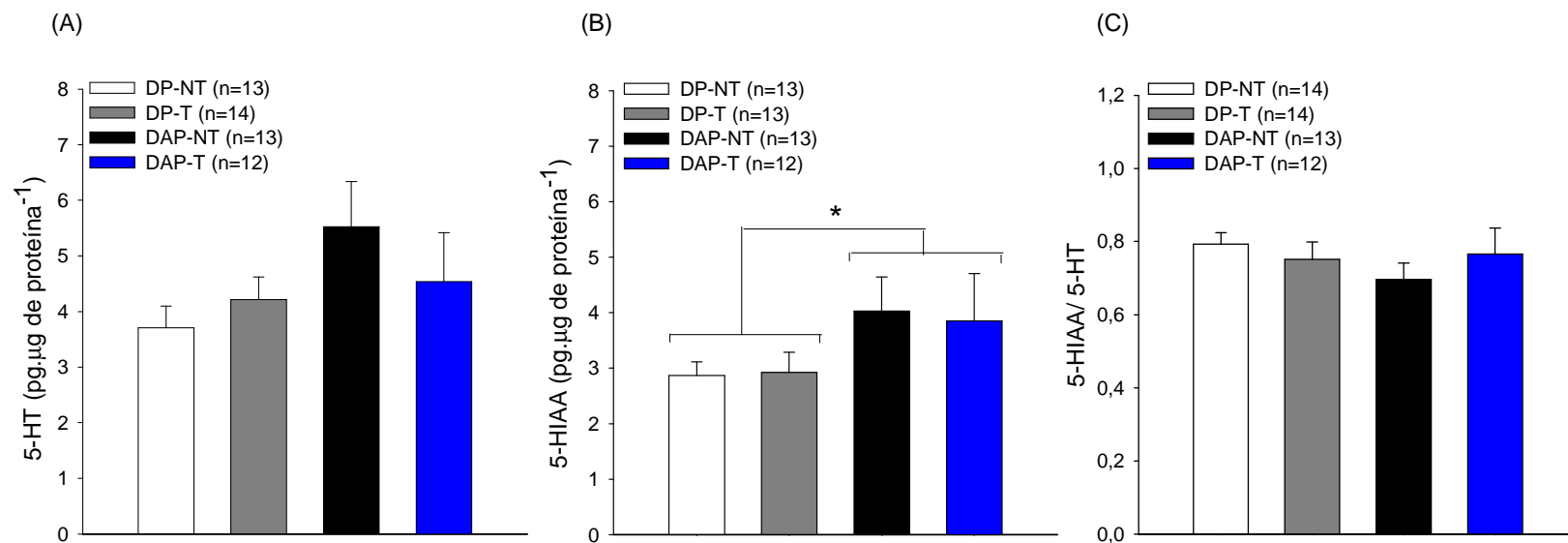


FIGURA 4.6: Efeito do treinamento físico sobre as concentrações de repouso de 5-HT (A), 5-HIAA (B) e 5-HIAA/ 5-HT (C) no hipotálamo de ratos alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade em comparação aos controles. Os dados estão expressos em média \pm EPM. DP-NT =dieta padrão não treinado; DP-T=dieta padrão treinado; DAP-NT=dieta de alta palatabilidade não treinado; DAP-T=dieta de alta palatabilidade treinado * = $p \leq 0,05$ em comparação ao controle da dieta de alta palatabilidade.

4.14 Correlação entre a relação 5-HIAA/ 5-HT no hipotálamo e o desempenho físico de animais alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade, treinados ou não treinados.

A figura 4.7 apresenta os valores das correlações entre a relação 5-HIAA/ 5-HT e o desempenho físico, avaliado pelo cálculo do trabalho no 3º TP após oito semanas de treinamento, de ratos alimentados com dieta padrão não treinados (A) e treinados (B) e de ratos alimentados com dieta de alta palatabilidade não treinados (C) e treinados (D).

Nos ratos alimentados com dieta padrão não treinados a relação 5-HIAA/ 5-HT correlacionou-se positivamente com o desempenho físico ($r = 0,54$; $r^2 = 0,29$ e $p = 0,043$), enquanto nos treinados não houve correlação significativa entre as variáveis descritas ($r = 0,31$; $r^2 = 0,29$ e $p = 0,281$). Já nos ratos que foram alimentados com a dieta de alta palatabilidade, houve uma correlação negativa entre a relação 5-HIAA/ 5-HT e o desempenho físico nos treinados ($r = 0,61$; $r^2 = 0,37$ e $p = 0,026$), enquanto nos não treinados as variáveis descritas não se correlacionaram significativamente ($r = 0,17$; $r^2 = 0,02$ e $p = 0,55$).

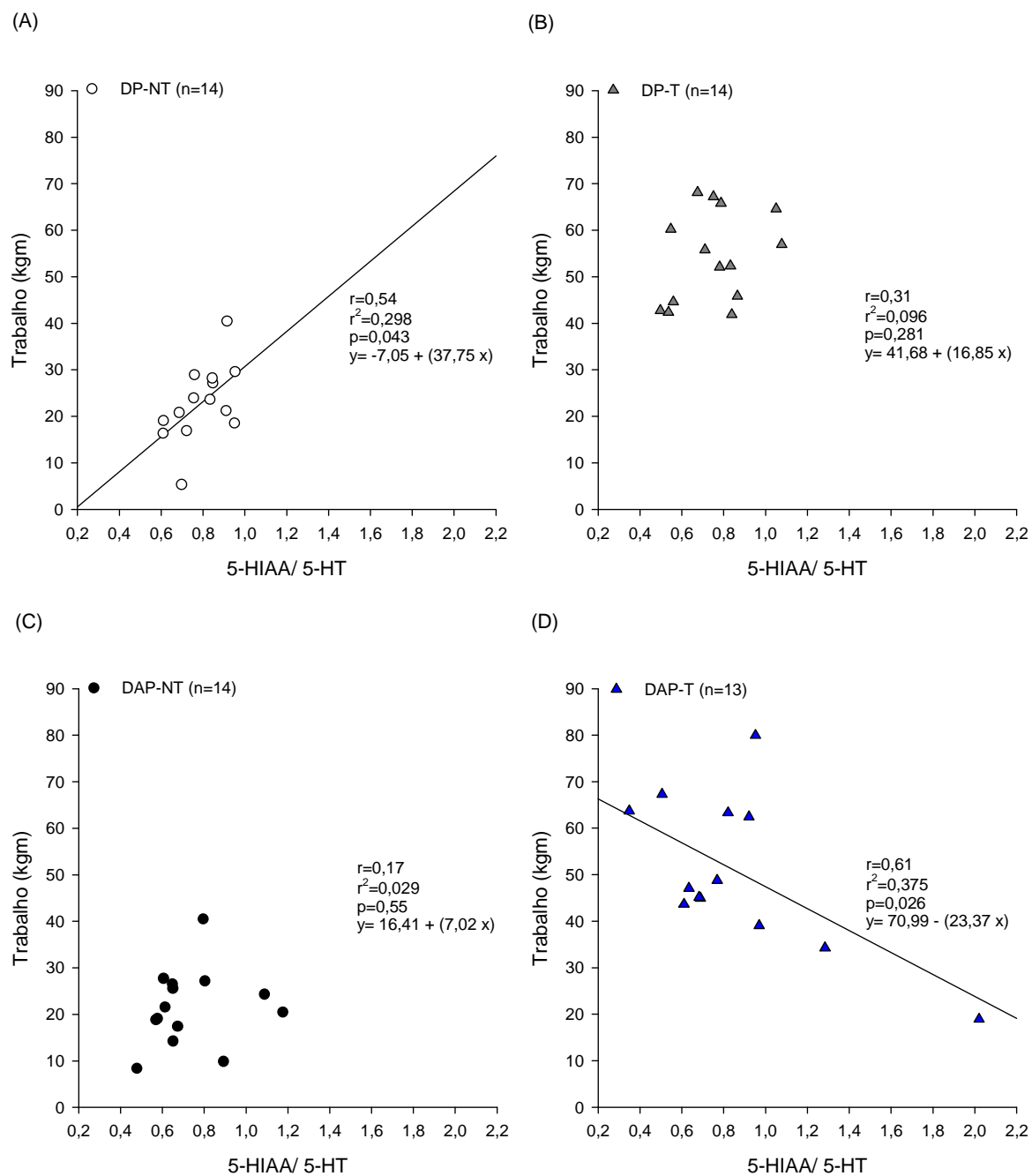


FIGURA 4.7: Correlação entre a relação 5-HIAA/5-HT no hipotálamo e o desempenho físico de animais alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade, não treinados e treinados.

4.15 Correlação entre a relação 5-HIAA/ 5-HT no hipotálamo e a ingestão alimentar de animais alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade, treinados ou não treinados.

A figura 4.8 apresenta os valores das correlações entre a relação 5-HIAA/ 5-HT no hipotálamo e a ingestão alimentar, de ratos alimentados com dieta padrão não treinados (A) e treinados (B) e de ratos alimentados com dieta de alta palatabilidade não-treinados (C) e treinados (D).

Não houve correlação significativa entre a relação 5-HIAA/ 5-HT no hipotálamo e a ingestão alimentar nos ratos alimentados com dieta padrão, tanto nos não treinados ($r = 0,11$; $r^2 = 0,01$ e $p = 0,70$), quanto nos treinados ($r = 0,32$; $r^2 = 0,10$ e $p = 0,26$). Porém, nos ratos alimentados com a dieta de alta palatabilidade, a relação 5-HIAA/ 5-HT e a ingestão alimentar correlacionaram-se positivamente nos ratos não treinados ($r = 0,76$; $r^2 = 0,57$ e $p = 0,007$), enquanto o treinamento físico aboliu esta correlação ($r = 0,50$; $r^2 = 0,25$ e $p = 0,097$).

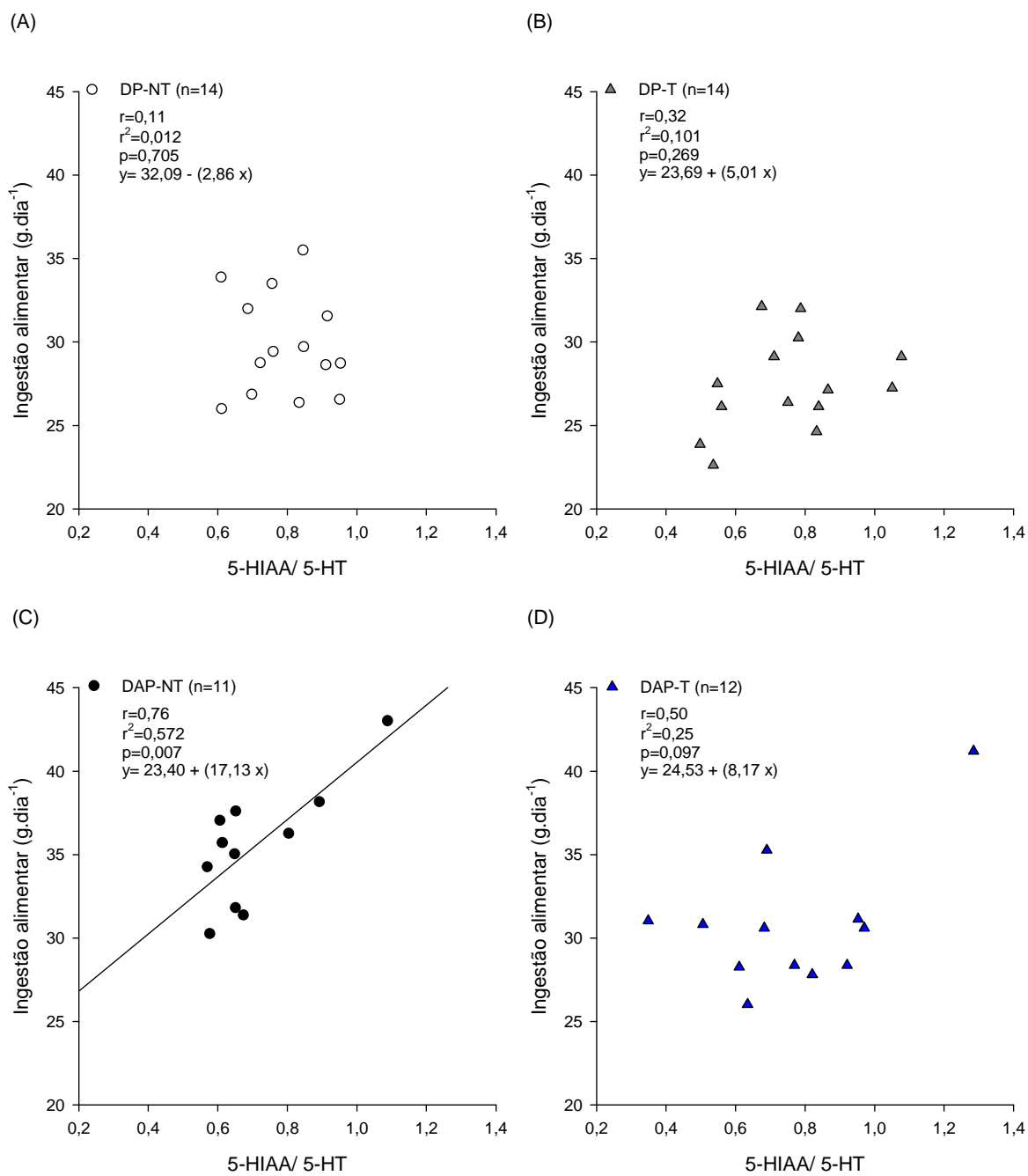


FIGURA 4.8: Correlação entre a relação 5-HIAA/5-HT no hipotálamo e a ingestão alimentar de animais alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade, não treinados e treinados.

4.16 Correlação entre a concentração de 5-HT no hipotálamo e a massa corporal de animais alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade, treinados ou não treinados.

A figura 4.9 apresenta os valores das correlações entre a concentração de 5-HT no hipotálamo e a massa corporal de ratos alimentados com dieta padrão não treinados (A) e treinados (B) e de ratos alimentados com dieta de alta palatabilidade não-treinados (C) e treinados (D).

A massa corporal de ratos alimentados com dieta padrão não treinados correlacionou-se positivamente com a concentração de 5-HT no hipotálamo ($r = 0,72$; $r^2 = 0,52$ e $p = 0,006$), enquanto o treinamento aboliu esta correlação ($r = 0,004$; $r^2 < 0,001$ e $p = 0,99$). Além disso, nos ratos alimentados com a dieta de alta palatabilidade não houve correlação significativa entre 5-HT e massa corporal, tanto em não treinados ($r=0,57$; $r^2 = 0,33$ e $p=0,065$) quanto em treinados ($r=0,38$; $r^2 = 0,14$ e $p=0,28$).

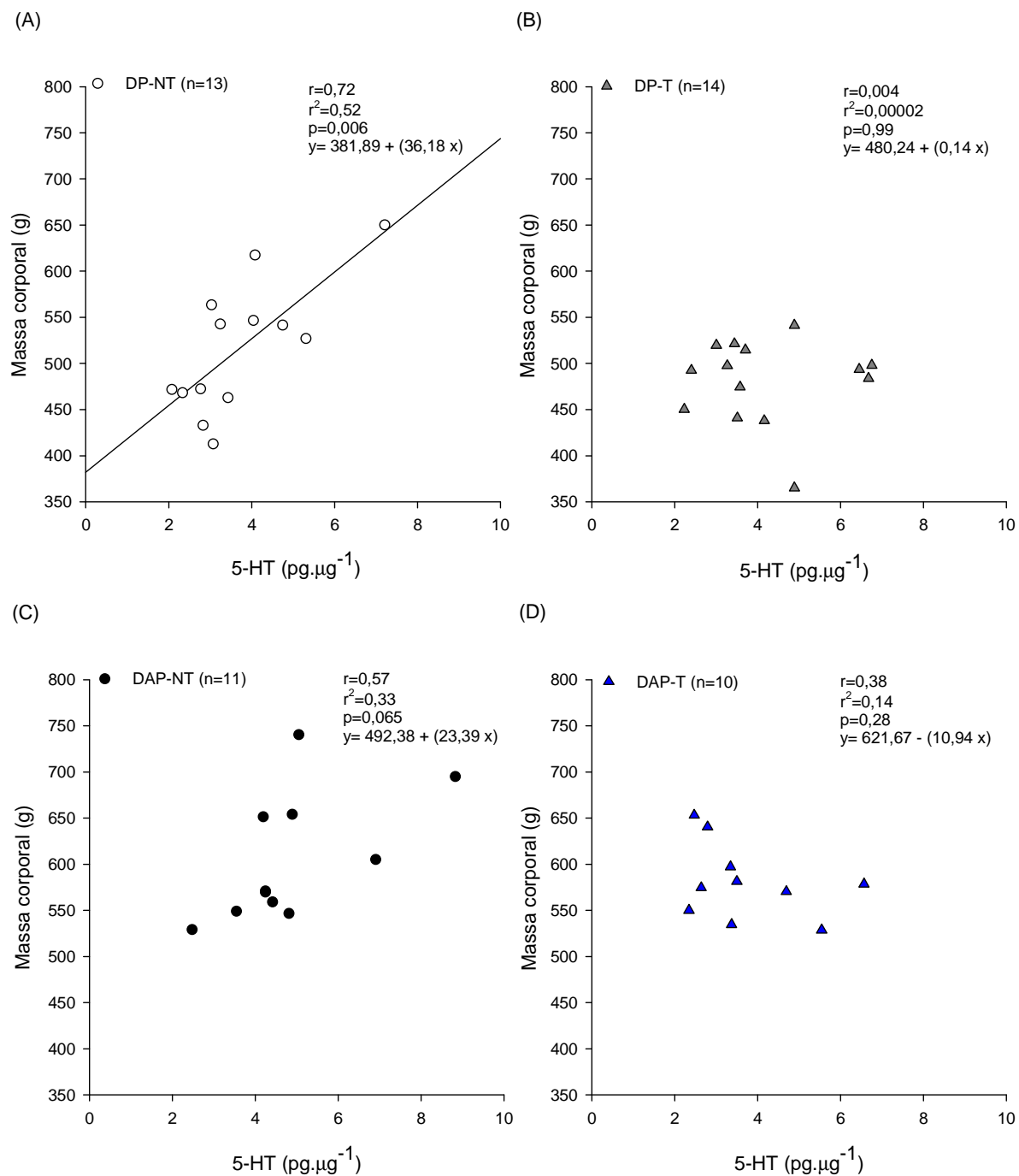


FIGURA 4.9: Correlação entre a concentração de 5-HT no hipotálamo e a massa corporal de animais alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade, não treinados e treinados.

4.17 Correlação entre a relação 5-HIAA/ 5-HT no hipotálamo e a massa corporal de animais alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade, treinados ou não treinados.

A figura 4.10 apresenta os valores das correlações entre a relação de 5-HIAA/ 5-HT no hipotálamo e a massa corporal de ratos alimentados com dieta padrão não treinados (A) e treinados (B) e de ratos alimentados com dieta de alta palatabilidade não-treinados (C) e treinados (D).

Nos ratos alimentados com dieta padrão não treinados e treinados a relação 5-HIAA/ 5-HT não se correlacionou significativamente com a massa corporal ($r = 0,02$; $r^2 < 0,001$ e $p = 0,92$ e $r = 0,24$; $r^2 = 0,06$ e $p = 0,41$, respectivamente). Entretanto, nos ratos alimentados com a dieta de alta palatabilidade, a relação 5-HIAA/ 5-HT e a massa corporal correlacionaram-se positivamente tanto nos não treinados ($r = 0,64$; $r^2 = 0,42$ e $p = 0,017$), quanto nos treinados ($r = 0,65$; $r^2 = 0,43$ $p = 0,020$).

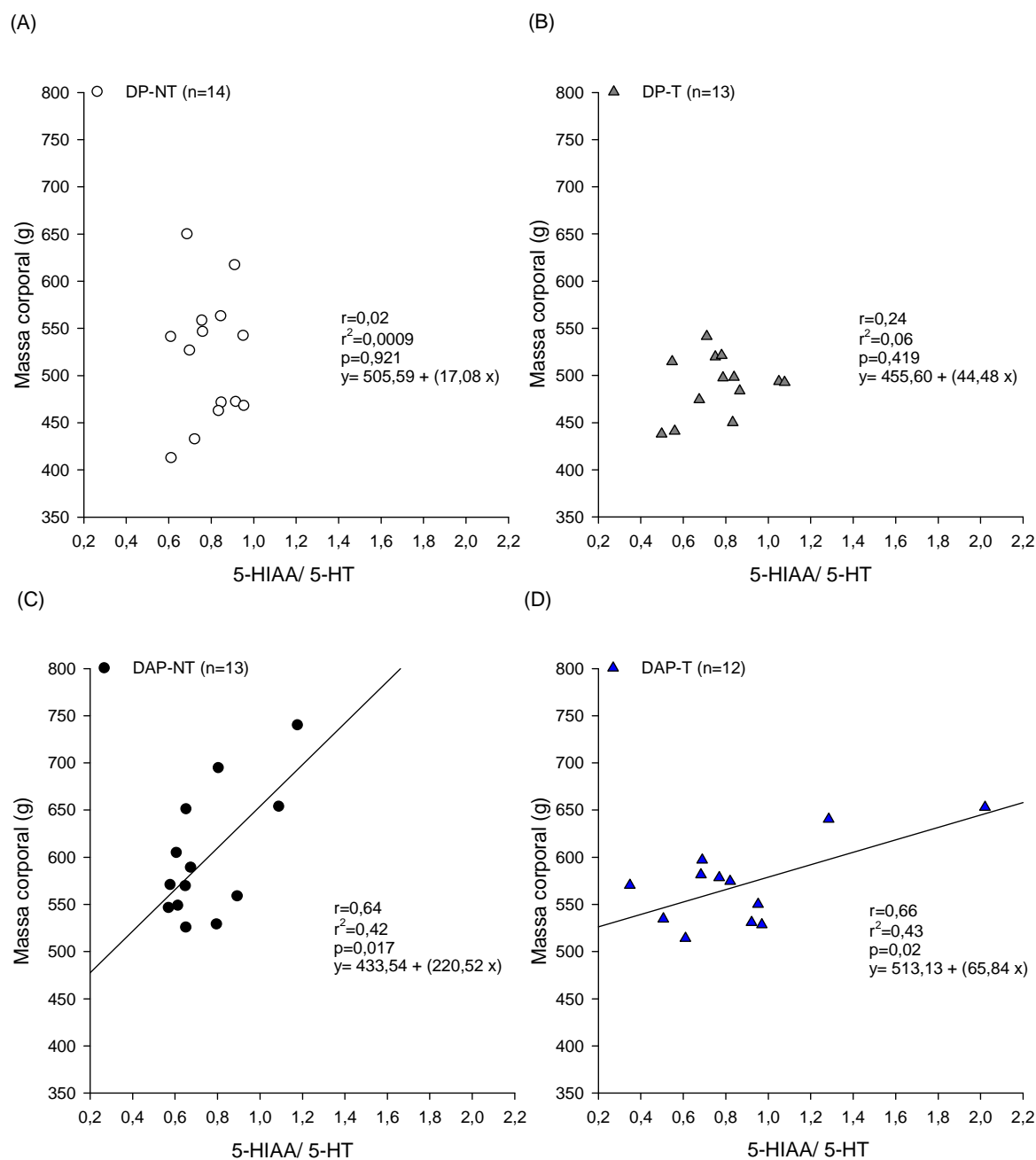


FIGURA 4.10: Correlação entre a relação 5-HIAA/5-HT no hipotálamo e a massa corporal de animais alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade, não treinados e treinados.

4.18 Concentrações de 5-HT e 5-HIAA e a relação 5-HIAA/5-HT no hipocampo de animais alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade, treinados ou não treinados, em repouso.

A figura 4.11 apresenta as concentrações de 5-HT (A) e 5-HIAA (B) e a relação 5-HIAA/5-HT (C) no hipocampo de ratos alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade, submetidos a oito semanas de treinamento físico e seus controles não treinados, após 17 semanas de experimento.

Após 17 semanas, as concentrações de 5-HT e 5-HIAA de repouso, no hipocampo, não foram diferentes nos ratos alimentados com dieta de alta palatabilidade em comparação aos alimentados com dieta padrão, tanto entre treinados (DP-T: $3,47 \pm 0,63 \text{ pg} \cdot \mu\text{g}^{-1}$ e $3,92 \pm 0,40 \text{ pg} \cdot \mu\text{g}^{-1}$ vs. DAP-T: $2,98 \pm 0,50 \text{ pg} \cdot \mu\text{g}^{-1}$ e $3,73 \pm 0,45 \text{ pg} \cdot \mu\text{g}^{-1}$; $p > 0,05$ e $p > 0,05$, respectivamente), quanto entre não treinados (DP-NT: $2,85 \pm 0,28 \text{ pg} \cdot \mu\text{g}^{-1}$ e $4,05 \pm 0,33 \text{ pg} \cdot \mu\text{g}^{-1}$ vs. DAP-NT: $3,83 \pm 0,70 \text{ pg} \cdot \mu\text{g}^{-1}$; $p > 0,05$ e $4,24 \pm 0,49 \text{ pg} \cdot \mu\text{g}^{-1}$; $p > 0,05$), respectivamente.

Já a relação 5-HIAA/5-HT no hipocampo, foi menor nos ratos alimentados com a dieta de alta palatabilidade em comparação aos controles dieta padrão quando o fator dieta foi analisado separadamente ($1,14 \pm 0,07$ vs. $1,44 \pm 0,11$; $p=0,04$). Porém, o treinamento físico não modificou esta relação, tanto em ratos alimentados com dieta padrão em comparação aos controles ($1,44 \pm 0,15$ vs. $1,39 \pm 0,10$; $p > 0,05$), quanto em ratos alimentados com dieta de alta palatabilidade em comparação aos controles ($1,16 \pm 0,11$ vs. $1,16 \pm 0,11$; $p > 0,05$).

HIPOCAMPO

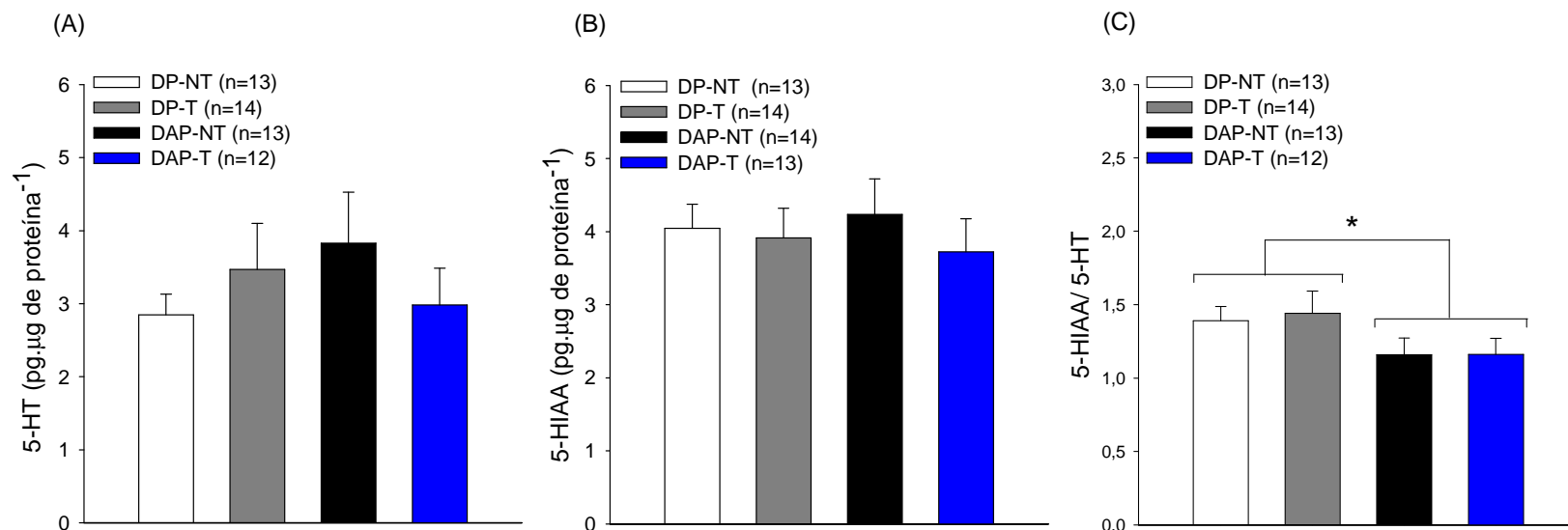


FIGURA 4.11: Efeito do treinamento físico sobre as concentrações de repouso de 5-HT (A) e 5-HIAA (B) e a relação 5-HIAA/5-HT (C) no hipocampo de ratos alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade em comparação aos controles. Os dados estão expressos em média \pm EPM. DP-NT =dieta padrão não treinado; DP-T=dieta padrão treinado; DAP-NT=dieta de alta palatabilidade não treinado; DAP-T=dieta de alta palatabilidade treinado. * = $p < 0,05$ em comparação ao controle da dieta de alta palatabilidade.

4.19 Correlação entre a relação 5-HIAA/5-HT no hipocampo e o desempenho físico de animais alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade, treinados ou não treinados.

A figura 4.12 apresenta os valores das correlações entre a relação 5-HIAA/ 5-HT e o desempenho físico, avaliado pelo cálculo do trabalho no 3º TP, após oito semanas de treinamento, de ratos alimentados com dieta padrão não-treinados (A) e treinados (B) e de ratos alimentados com dieta de alta palatabilidade não treinados (C) e treinados (D).

Nos ratos alimentados com dieta padrão não treinados e treinados não houve correlação significativa entre a relação 5-HIAA/5-HT no hipocampo e o desempenho físico ($r = 0,03$; $r^2 < 0,001$ e $p = 0,93$ e $r = 0,18$; $r^2 = 0,03$ e $p = 0,54$, respectivamente). Além disso, nos ratos que foram alimentados com a dieta de alta palatabilidade, não houve correlação significativa entre a relação 5-HIAA/5-HT no hipocampo e o desempenho físico nos não treinados ($r = 0,20$; $r^2 = 0,04$ e $p = 0,40$), enquanto nos treinados, as variáveis descritas correlacionaram-se negativamente ($r = 0,73$; $r^2 = 0,03$ e $p = 0,005$).

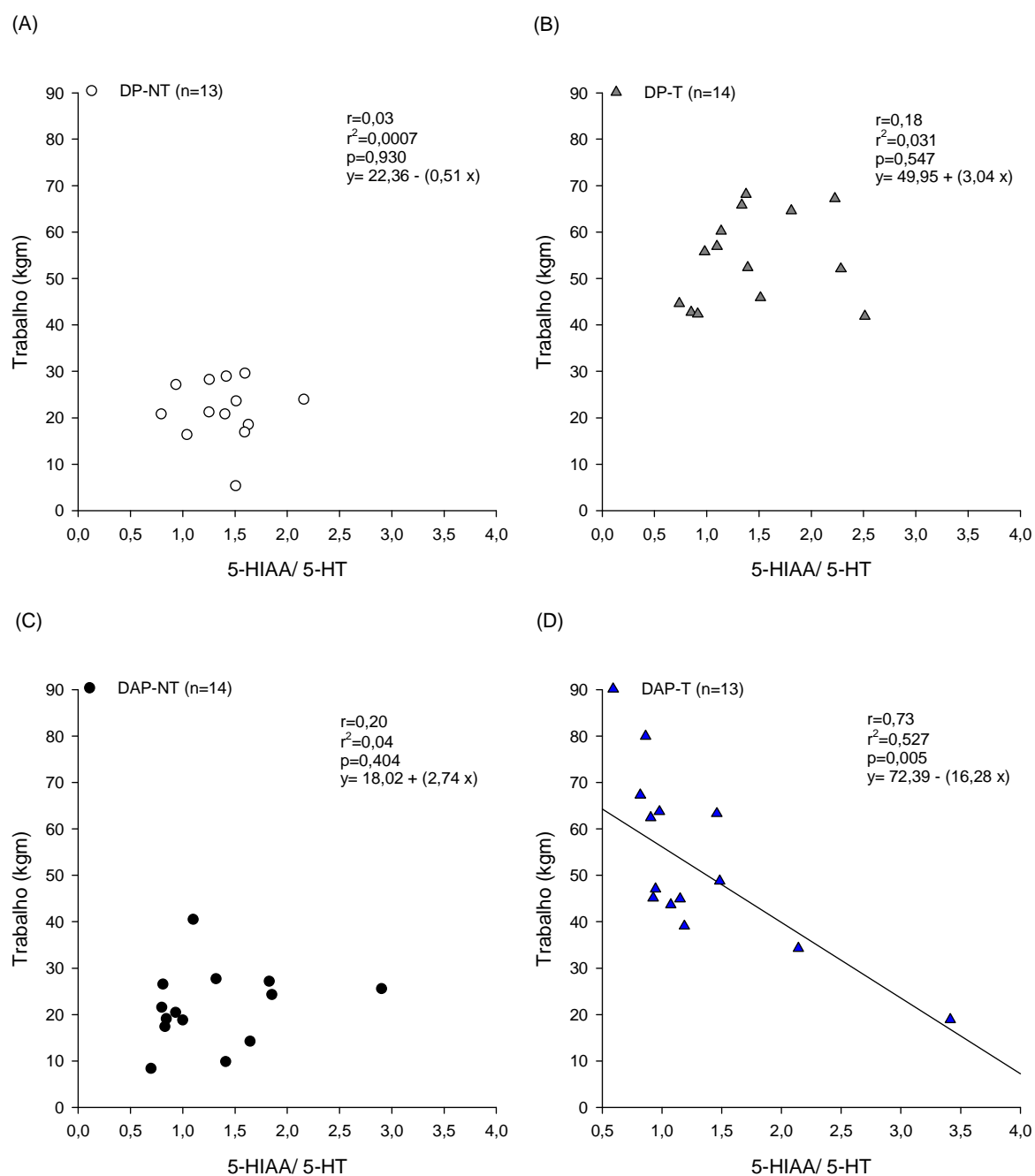


FIGURA 4.12: Correlação entre a relação 5-HIAA/5-HT no hipocampo e o desempenho físico de animais alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade, não treinados e treinados.

4.20 Correlação entre a relação 5-HIAA/5-HT no hipocampo e a ingestão alimentar de animais alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade, treinados ou não treinados.

A figura 4.13 apresenta os valores das correlações entre a relação 5-HIAA/ 5-HT no hipocampo e a ingestão alimentar, de ratos alimentados com dieta padrão não treinados (A) e treinados (B) e de ratos alimentados com dieta de alta palatabilidade não-treinados (C) e treinados (D).

Não houve correlação significativa entre a relação 5-HIAA/5-HT e a ingestão alimentar nos ratos alimentados com dieta padrão, tanto nos não treinados ($r = 0,22$; $r^2 = 0,04$ e $p = 0,49$), quanto nos treinados ($r = 0,17$; $r^2 = 0,02$ e $p = 0,55$). Entretanto, nos ratos alimentados com a dieta de alta palatabilidade, a relação 5-HIAA/5-HT e a ingestão alimentar correlacionaram-se positivamente nos ratos não treinados ($r = 0,61$; $r^2 = 0,37$ e $p = 0,027$) e nos treinados ($r = 0,68$; $r^2 = 0,45$ e $p = 0,016$).

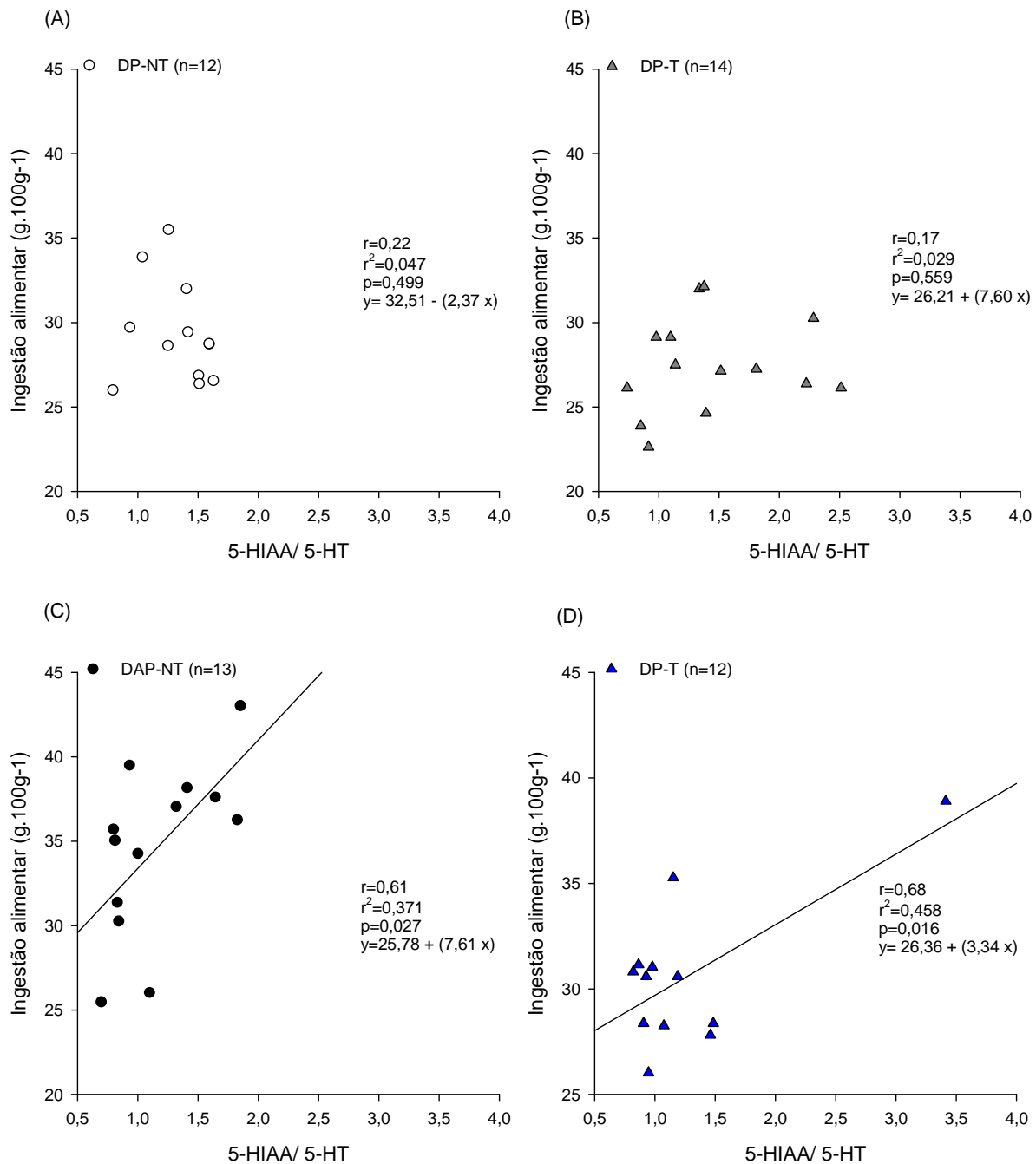


FIGURA 4.13: Correlação entre a relação 5-HIAA/5-HT no hipocampo e a ingestão alimentar de animais alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade, não treinados e treinados.

4.21 Correlação entre a relação 5-HIAA/ 5-HT no hipocampo e a massa corporal de animais alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade, treinados ou não treinados.

A figura 4.14 apresenta os valores das correlações entre a relação de 5-HIAA/ 5-HT no hipocampo e a massa corporal de ratos alimentados com dieta padrão não treinados (A) e treinados (B) e de ratos alimentados com dieta de alta palatabilidade não-treinados (C) e treinados (D).

A relação 5-HIAA/ 5-HT no hipocampo não se correlacionou significativamente com a massa corporal de ratos não treinados, tanto alimentados com a dieta padrão ($r = 0,21$; $r^2 = 0,04$ e $p = 0,48$), quanto alimentados com a dieta de alta palatabilidade ($r = 0,02$; $r^2 < 0,001$ e $p = 0,93$). No entanto, houve correlação positiva entre as variáveis 5-HIAA/5-HT e a massa corporal nos ratos treinados alimentados com a dieta padrão ($r = 0,67$; $r^2 = 0,45$ e $p = 0,017$) ou com a dieta de alta palatabilidade ($r = 0,80$; $r^2 = 0,65$ e $p = 0,002$).

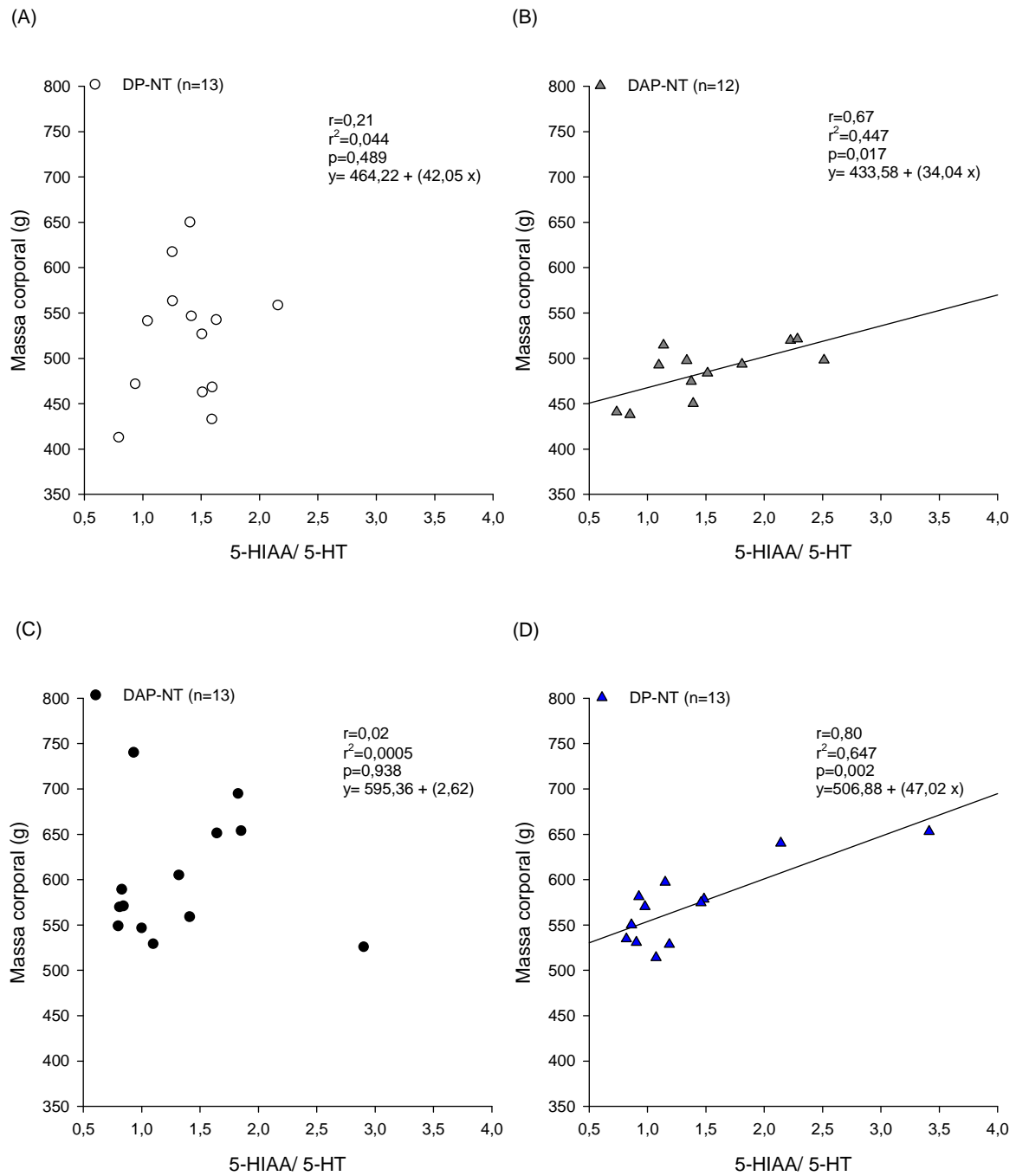


FIGURA 4.14: Correlação entre a relação 5-HIAA/5-HT no hipocampo e a massa corporal de animais alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade, não treinados e treinados.

4.22 Concentrações de DA e DOPAC e a relação DOPAC/DA no hipotálamo de animais alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade, treinados ou não treinados, em repouso.

A figura 4.15 apresenta as concentrações de DA (A) e DOPAC (B) e a relação DOPAC/DA (C) de ratos alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade, submetidos a oito semanas de treinamento físico e seus controles não treinados, após 17 semanas de experimento.

Após 17 semanas, não houve diferença nas concentrações de DA de repouso no hipotálamo entre os ratos alimentados com dieta de alta palatabilidade e dieta padrão, tanto treinados ($3,13 \pm 0,71 \text{ pg} \cdot \mu\text{g}^{-1}$ vs. $2,43 \pm 0,20 \text{ pg} \cdot \mu\text{g}^{-1}$; $p > 0,05$) quanto não treinados ($2,59 \pm 0,49 \text{ pg} \cdot \mu\text{g}^{-1}$ vs. $2,19 \pm 0,28 \text{ pg} \cdot \mu\text{g}^{-1}$; $p > 0,05$). Entretanto, a análise de variância demonstrou uma maior concentração de DOPAC nos animais alimentados com dieta de alta palatabilidade em comparação aos controles quanto o fator dieta foi analisado isoladamente ($0,96 \pm 0,14 \text{ pg} \cdot \mu\text{g}^{-1}$ vs. $0,63 \pm 0,06 \text{ pg} \cdot \mu\text{g}^{-1}$; $p=0,020$).

A relação DOPAC/DA não foi diferente entre os ratos alimentados com dieta de alta palatabilidade em comparação aos controles, tanto treinados ($0,32 \pm 0,04$ vs. $0,28 \pm 0,03$; $p > 0,05$), quanto não treinados ($0,28 \pm 0,03$ vs. $0,30 \pm 0,03$; $p > 0,05$). Além disso, o treinamento físico não modificou esta relação em ratos alimentados com dieta padrão ($0,28 \pm 0,03$ vs. $0,30 \pm 0,03$; $p > 0,05$) ou em ratos alimentados com dieta de alta palatabilidade em comparação aos controles ($0,32 \pm 0,04$ vs. $0,28 \pm 0,03$; $p > 0,05$).

HIPOTÁLAMO

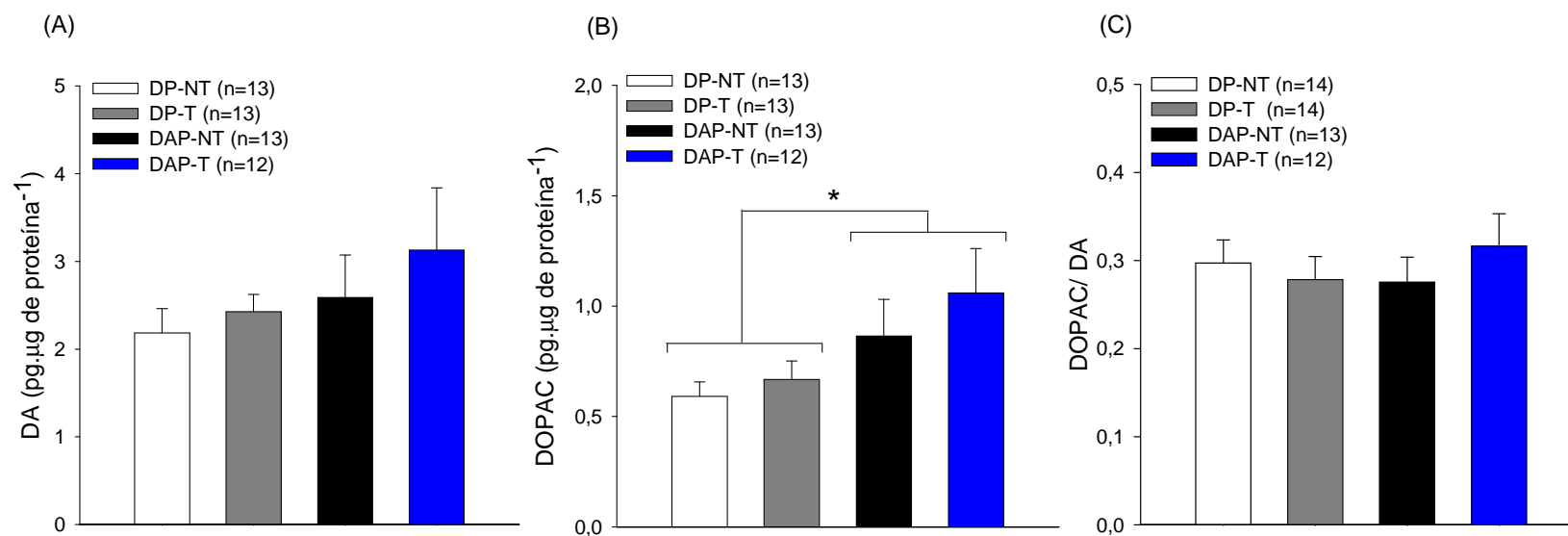


FIGURA 4.15: Efeito do treinamento físico sobre as concentrações de DA (A) e DOPAC (B) e a relação DOPAC/ DA (C) no hipotálamo de ratos alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade em comparação aos controles. Os dados estão expressos em média \pm EPM. DP-NT =dieta padrão não treinado; DP-T=dieta padrão treinado; DAP-NT=dieta de alta palatabilidade não treinado; DAP-T=dieta de alta palatabilidade treinado. * = $p \leq 0,05$ em comparação ao controle da dieta de alta palatabilidade.

4.23 Relação 5-HT/DA no hipotálamo de animais alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade, treinados ou não treinados, em repouso.

A figura 4.16 apresenta a relação entre 5-HT e DA no hipotálamo de ratos alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade, submetidos a oito semanas de treinamento físico e seus controles durante o repouso, após 17 semanas de experimento.

A relação 5-HT/DA no hipotálamo foi maior nos animais alimentados com dieta de alta palatabilidade não treinados em comparação aos ratos alimentados com dieta padrão não treinados ($2,22 \pm 0,22$ vs. $1,74 \pm 0,14$; $p = 0,039$), respectivamente. Nos ratos treinados alimentados com dieta de alta palatabilidade houve uma menor relação 5-HT/DA no hipotálamo em comparação aos controles ($1,47 \pm 0,10$ vs. $2,22 \pm 0,23$; $p = 0,002$), enquanto nos alimentados com dieta padrão treinados essa resposta não foi observada ($1,66 \pm 0,16$ vs. $1,74 \pm 0,14$; $p = 0,71$).

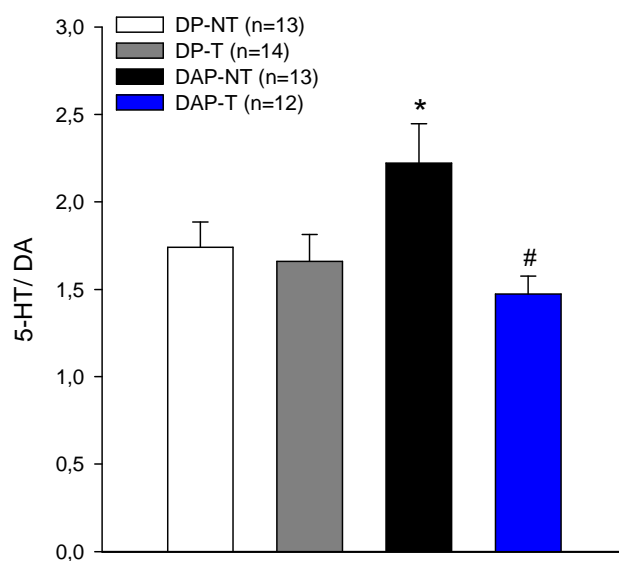


FIGURA 4.16: Efeito do treinamento físico sobre a relação 5-HT/ DA no hipotálamo de ratos alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade em comparação aos controles. Os dados estão expressos em média \pm EPM. DP-NT =dieta padrão não treinado; DP-T=dieta padrão treinado; DAP-NT=dieta de alta palatabilidade não treinado; DAP-T=dieta de alta palatabilidade treinado. * = $p \leq 0,05$ em comparação ao controle da dieta de alta palatabilidade. # = $p \leq 0,05$ em comparação ao controle do treinamento físico.

Síntese dos Resultados:

A administração ip. de TRP durante quatro semanas não alterou a ingestão alimentar, a massa corporal e o desempenho físico dos animais alimentados com dieta de alta palatabilidade ou padrão, treinados ou não treinados.

A administração ip. de TRP na dose utilizada, durante quatro semanas, não modificou as concentrações de 5-HT e do seu metabólito 5-HIAA, nem a relação 5-HIAA/ 5-HT no hipotálamo ou no hipocampo dos animais alimentados com dieta de alta palatabilidade ou padrão, treinados ou não treinados.

A concentração de 5-HIAA no hipotálamo (analisada separadamente) foi maior em animais alimentados com dieta de alta palatabilidade durante 17 semanas.

A relação 5-HIAA/ 5-HT no hipocampo (analisada separadamente) foi menor em animais alimentados com dieta de alta palatabilidade durante 17 semanas.

A concentração do metabólito da dopamina, DOPAC, no hipotálamo (analisada separadamente) foi maior em animais alimentados com dieta de alta palatabilidade durante 17 semanas.

A relação 5-HT/ DA no hipotálamo foi maior em animais alimentados com dieta de alta palatabilidade durante 17 semanas.

O treinamento físico de oito semanas não modificou as concentrações de monoaminas e seus metabólitos, bem como as relações de metabólito/monoamina nos animais independente do tipo de dieta a que estavam submetidos.

O treinamento físico de oito semanas preveniu o aumento da relação 5-HT/ DA no hipotálamo nos animais alimentados com dieta de alta palatabilidade.

5 DISCUSSÃO

No presente estudo, nove semanas de tratamento com a dieta de alta palatabilidade, induziram um aumento na ingestão alimentar e um maior ganho de massa corporal em ratos recém desmamados (FIGURA 4.1), provavelmente devido à maior eficiência energética observada em ratos alimentados com esta dieta (FIGURA 4.2).

Já está descrito na literatura que o consumo de alimentos palatáveis está relacionado a mudanças no padrão de apetite, levando em curto prazo, a uma maior taxa e duração da ingestão alimentar, contribuindo para o aumento da massa corporal (BELLISLE & LEMAGNEN, 1980; SPIEGEL *et al.*, 1989; YEOMANS, 1996). A dieta de alta palatabilidade tem sido utilizada como um modelo de indução de obesidade em ratos e comumente caracterizada como hipercalórica (DE LIMA *et al.*, 2008; WILDING *et al.*, 1992; HARROLD *et al.*, 1999; NADERALI *et al.*, 2001; NADERALI *et al.*, 2003). Entretanto, a análise bromatológica realizada em nosso estudo mostrou que a dieta de alta palatabilidade é hipocalórica em relação à dieta padrão sem apresentar diferenças na quantidade de carboidratos (TABELA 3.1). No entanto, evidencia-se que este tipo de dieta possui maior conteúdo de açúcares simples provenientes da substituição de parte da ração padrão por leite condensado e açúcar cristal.

A quantidade de fibras da dieta de alta palatabilidade utilizada em nosso estudo é menor comparada a da dieta padrão (TABELA 3.1). Apesar de não conhecermos o tipo de fibra na dieta, existem evidências de que fibras solúveis inibem a absorção de açúcares simples e gorduras (BUCKERIDGE, 2001). Provavelmente pode ter ocorrido uma maior absorção de açúcares simples e gorduras em animais alimentados com a dieta de alta palatabilidade, o que resultou em uma maior eficiência energética nesses animais após nove semanas submetidos a esta dieta. Apesar disso, os mecanismos envolvidos nas alterações da modulação alimentar e do controle do peso corporal induzidas por dieta de alta palatabilidade ainda não são totalmente claros.

Embora a dieta de alta palatabilidade tenha interferido no balanço energético não foram observadas alterações no desempenho físico, verificado pelo TE, velocidade máxima ou trabalho, medidos durante o 1º TP (TABELA 4.1). A massa corporal é utilizada no cálculo do trabalho desenvolvido durante o exercício, logo, poderia influenciar o resultado no grupo alimentado com dieta de alta palatabilidade. No entanto, a magnitude do aumento da massa corporal no grupo DAP não alterou o desempenho físico. Além disso, estudos mostram que o aumento na adiposidade corporal contribui para a redução no desempenho físico (FERREIRA, 1998), o que não foi verificado após nove semanas de fornecimento da dieta de alta palatabilidade.

Neste estudo a administração ip. de TRP durante quatro semanas não modificou o desempenho físico (TABELA 4.2), a ingestão alimentar, a massa corporal (TABELA 4.3) e as concentrações centrais de 5-HT e 5-HIAA ou a relação 5-HIAA/ 5-HT em repouso de animais alimentados com dieta de alta palatabilidade ou padrão, treinados e não treinados em comparação aos controles SAL (TABELA 4.4). Estudos indicam que a administração ip. de TRP resulta em aumento nas concentrações deste aminoácido e de 5-HT no cérebro de ratos (ARAI *et al.*, 1995; KITAHAMA *et al.*, 2002). Coskun *et al.* (2006) verificaram que a administração ip. de $100\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot 24\text{h}^{-1}$ de TRP por sete dias, além de reduzir a ingestão alimentar diária e o ganho de massa corporal, aumentou a densidade de 5-HT cerebral em camundongos. Em nosso estudo, a ausência de efeitos induzidos pelo TRP, pode estar associada em parte, ao fato da administração ip. ter sido realizada logo após a sessão de exercício físico, o que pode ter influenciado no metabolismo e transporte deste aminoácido. O exercício por si só pode ter aumentado a disponibilidade de TRP para o SNC, saturando o sistema L-transportador, já que este aminoácido possui baixa permeabilidade à barreira hematoencefálica (OLDENDORF & SZABO, 1976). Além disso, no presente estudo, os animais encontravam-se em situação pós prandial quando recebiam a injeção ip. de TRP. Tem sido relatado que um aumento nas concentrações de insulina em resposta à ingestão alimentar pode estimular a captação de AACR pelos músculos, possibilitando maior influxo de TRP para o SNC (FERNSTROM & WURTMAN, 1971).

Como esperado, ao final de 17 semanas de experimento, foram observadas maiores ingestão alimentar, massa corporal e eficiência energética nos ratos alimentados com a dieta de alta palatabilidade em comparação aos controles (FIGURA 4.3A e B, FIGURA 4.4, respectivamente). Além disso, os tecidos adiposos epididimal, retroperitoneal e mesentérico foram 81, 57 e 48%, respectivamente maiores em ratos alimentados com a dieta de alta palatabilidade comparados aos controles. Isto resultou em aumento de aproximadamente 62% no índice de adiposidade (TABELA 4.7). Adicionalmente, não houve diferença no músculo gastrocnêmio entre os grupos (TABELA 4.7). Estes resultados indicam que a principal diferença na massa corporal entre os grupos pode ser resultante das modificações nos estoques de gordura no tecido adiposo e que os animais alimentados com dieta de alta palatabilidade em nosso estudo podem, portanto serem considerados obesos.

A análise de parâmetros lipídicos plasmáticos demonstrou que a ingestão da dieta de alta palatabilidade aumentou a concentração plasmática de triacilglicerol e não modificou a concentração de colesterol total (TABELA 4.6). Os animais alimentados com a dieta de alta palatabilidade apresentaram uma maior concentração plasmática de insulina durante o repouso em comparação aos controles. Entretanto, as concentrações de glicose no plasma não foram diferentes entre animais alimentados com dieta padrão e de alta palatabilidade (TABELA 4.6). Nossos resultados apontam para uma possível resistência à insulina induzida pela dieta, pois para as mesmas concentrações de repouso de glicose, os animais que se alimentaram com a dieta de alta palatabilidade apresentavam concentrações mais elevadas de insulina. Evidencia-se na literatura que dietas ricas em carboidratos estimulam a atividade lipogênica no tecido adiposo, produzindo aumento na concentração pós prandial de triacilglicerol no plasma (KERSTEN, 2001). Embora não tenhamos feito a análise da quantidade de sacarose presente nas duas dietas, pela sua composição (TABELA 3.1) podemos sugerir que a dieta de alta palatabilidade é uma dieta rica em sacarose. O consumo de carboidratos simples em longo prazo pode aumentar a estimulação da via das

hexosaminas, levando a um quadro de resistência à insulina, a um aumento das concentrações plasmáticas de leptina e ácidos graxos e como consequência maior concentração plasmática de triacilglicerol (MARSHALL *et al.*, 1991). Além disso, está descrito na literatura que um aumento no tecido de gordura intrabdominal está relacionado a maior resistência à insulina (CNOP *et al.*, 2002).

As modificações na adiposidade induzidas pela dieta de alta palatabilidade foram acompanhadas de aumento nas concentrações plasmáticas de leptina e insulina. Estudos indicam que as concentrações de leptina e insulina no plasma são proporcionais à quantidade de tecido adiposo (BAGDADE *et al.*, 1967; CONSIDINE *et al.*, 1996) e ambos os hormônios participam da modulação da ingestão alimentar e do peso corporal (SCHWARTZ *et al.*, 1992). A leptina exerce sua ação central pela ligação com receptor específico, Ob-Rb, localizado em grandes concentrações no hipotálamo, sobretudo em áreas envolvidas na regulação da ingestão alimentar (BASKIN *et al.*, 1999). Indivíduos obesos possuem aumento nas concentrações séricas de leptina, sugerindo que na obesidade haja uma redução de sua ação central, caracterizando um estado de resistência a essa proteína (CONSIDINE *et al.*, 1996). Em camundongos alimentados com dieta rica em gordura ocorre uma elevação permanente nas concentrações de leptina circulante que está associado a um aumento no tecido de gordura. Ainda, apesar de uma maior quantidade de leptina, esses animais tornam-se obesos, sugerindo que este tipo de dieta possa alterar o *set point* para controle da massa corporal, pelo menos em parte pela diminuição da ação da leptina no cérebro (FREDERICH *et al.*, 1995). A ação da leptina no cérebro parece ser mediada pelo neurotransmissor 5-HT (FERNANDEZ-GALAZ *et al.*, 2010). Os efeitos da leptina no comportamento alimentar e no metabolismo podem ser mediados por neurônios serotoninérgicos dos núcleos da rafe, os quais possuem projeções para áreas hipotalâmicas associadas com o balanço energético (MEGUID *et al.*, 2000).

Nosso estudo não verificou diferenças nas concentrações de 5-HT e 5-HIAA e na relação 5-HIAA/ 5-HT no hipotálamo de animais alimentados com dieta de alta palatabilidade em comparação aos controles (FIGURA 4.6). No entanto, a análise de variância mostrou uma maior concentração do metabólito de 5-HT no hipotálamo em ratos alimentados com a dieta de alta palatabilidade, quando o fator dieta foi verificado separadamente (FIGURA 4.6B). Além disso, verificamos uma correlação positiva da estimativa do *turnover* serotoninérgico no hipotálamo com a ingestão alimentar (FIGURA 4.8), e com a massa corporal (FIGURA 4.9) de animais alimentados com a dieta de alta palatabilidade não treinados. Uma hipótese que poderia explicar a hiperfagia e o subsequente ganho de peso induzidos pela dieta de alta palatabilidade, baseia-se na diminuição da disponibilidade central de 5-HT (MACKENZIE *et al.*, 1979; FLETCHER & PATERSON, 1989). Mais especificamente, Park *et al.* (1999) sugeriram que um aumento de receptores 5HT_{1B} e 5-HT_{2A} no hipotálamo e 5-HT_{1A} em núcleos da rafe, além de um maior número de transportadores de 5-HT nas regiões descritas, estaria associado a uma redução da atividade serotoninérgica e a um maior ganho de peso corporal em ratos alimentados com dieta de alta palatabilidade durante sete semanas.

Em modelo de ratos geneticamente obesos tem sido evidenciadas alterações na atividade serotoninérgica (OHLIGER-FRERKING *et al.*, 2003). Esses animais normalmente apresentam modificações no comportamento alimentar que levam a hiperfagia com apenas 16 dias de idade, e que persistem na vida adulta (MCLAUGHLIN & BAILE, 1981). Apesar de nosso estudo não ter utilizado animais geneticamente obesos é possível estabelecer uma relação com modelos de obesidade induzida por dieta devido à similaridade nos aspectos de hiperfagia e aumento de adiposidade. Routh *et al.* (1993) mostraram uma redução no metabólito (5-HIAA) e na relação 5-HIAA/5-HT no VMH de ratos adultos Zucker geneticamente obesos (*fa/fa*) em comparação aos controles magros (*Fa/Fa*). Em estudo subsequente, foi verificada uma menor concentração do metabólito de 5-HT (25-34%) e um menor *turnover* serotoninérgico no VMH de ratos Zucker (*fa/fa*) com apenas 12 dias de idade, os quais já possuíam maior massa corporal (ROUTH *et al.*, 1994). Portanto, os autores sugerem

que a redução da atividade serotoninérgica observada nesse modelo esteja relacionada ao maior massa corporal e hiperfagia.

Outro modelo de indução de obesidade utilizado para estudar alterações no comportamento alimentar e atividade serotoninérgica central refere-se à utilização de dieta hiperlipídica. A dieta de alta palatabilidade do presente estudo não difere do padrão em quantidade de gordura, mas como verificado, induziu hiperfagia e aumentou a adiposidade dos animais após 17 semanas. Utilizando técnica de microdiálise, Banas *et al.* (BANAS *et al.*, 2009) verificaram que animais alimentados com dieta hiperlipídica durante uma ou seis semanas possuem uma maior concentração basal de 5-HT e 5-HIAA no hipotálamo. Mais ainda, quando investigada a resposta do sistema serotoninérgico à ingestão alimentar, a liberação de 5-HT foi atrasada e atenuada, enquanto a do metabólito (5-HIAA) foi antecipada após uma semana de dieta hiperlipídica. Além disso, a concentração de 5-HT não alterou durante ou após a ingestão alimentar com seis semanas de dieta hiperlipídica. Estes autores sugerem que o aumento da ingestão alimentar deve-se, pelo menos em parte, a uma redução da saciedade em consequência da atenuação da atividade serotoninérgica no hipotálamo. Considerando que as investigações sobre o sistema serotoninérgico no presente estudo ocorreram em ratos no início do ciclo claro, podemos inferir que as concentrações de 5-HT e 5-HIAA medidas refletem a fase pós prandial dos animais, já que os mesmos não foram privados de alimentação no ciclo que antecedeu a eutanásia. Neste caso, especula-se que a maior concentração de 5-HIAA no hipotálamo para o fator dieta isoladamente, esteja associada a modificações na modulação do comportamento alimentar e do balanço energético. Esta hipótese é evidenciada pelas correlações da estimativa da atividade serotoninérgica (5-HIAA/ 5-HT) no hipotálamo com a ingestão alimentar (FIGURA 4.8C) e com a massa corporal (FIGURA 4.9C) nos animais alimentados com a dieta de alta palatabilidade não treinados.

Como apresentado, não foram encontradas diferenças nas concentrações de 5-HT e 5-HIAA e na relação 5-HIAA/ 5-HT no hipocampo de animais alimentados com dieta de alta palatabilidade em comparação aos controles (FIGURA 4.11). Todavia, a análise de variância indicou uma menor estimativa do *turnover* serotoninérgico no hipocampo de animais alimentados com a dieta de alta palatabilidade, quando o fator dieta foi verificado separadamente (FIGURA 4.11C). Além disso, houve uma correlação direta entre a relação 5-HIAA/ 5-HT e a ingestão alimentar de animais alimentados com dieta de alta palatabilidade não treinados (FIGURA 4.13C). O hipocampo recebe projeções serotoninérgicas dos núcleos da rafe e participa da modulação alimentar, mais especificamente do controle de funções cognitivas relacionadas ao alimento (TATARANNI *et al.*, 1999; TRACY *et al.*, 2001). Existem evidências da participação do neurotransmissor 5-HT na neurogênese hipocampal (Yau *et al.*, 2001). Além disso, tem sido mostrado na literatura que a plasticidade do hipocampo é modulada pela leptina (FARR *et al.*, 2006; OOMURA *et al.*, 2006; HARVEY, 2007). Portanto, uma diminuição da sinalização serotoninérgica no hipocampo ou do transporte de leptina para o SNC, associada à obesidade, pode diminuir a plasticidade sináptica (GRILLO *et al.*, 2011). Recentemente, foi demonstrado na literatura que a leptina interfere na atividade serotoninérgica no hipocampo, reduzindo a densidade de receptores (GARCIA-ALCOCER *et al.*, 2010). Desta maneira, podemos inferir que uma redução da atividade serotoninérgica no hipocampo esteja associada à obesidade induzida pela dieta de alta palatabilidade.

Pesquisas mostram que o padrão alimentar, tamanho e número de refeições, é modulado pela interação entre os sistemas serotoninérgico e dopaminérgico, principalmente no hipotálamo (OROSCO & NICOLAIDIS, 1992; FETISSOV *et al.*, 2000a; MEGUID *et al.*, 1999). No presente estudo, não foram encontradas diferenças entre os grupos nas concentrações de DA e DOPAC e na relação DOPAC/ DA no hipotálamo (FIGURA 4.15). Entretanto, a análise de variância mostrou um aumento nas concentrações do metabólito de DA (DOPAC) no hipotálamo de animais alimentados com a dieta de alta palatabilidade em comparação aos controles, para o fator dieta

isoladamente (FIGURA 4.15B). Além disso, apesar das concentrações de 5-HT e DA não apresentarem diferenças entre os grupos experimentais, a relação 5-HT/ DA foi maior no hipotálamo de ratos que se alimentaram com a dieta de alta palatabilidade (FIGURA 4.16). No hipotálamo, a liberação de DA tem sido associada com o controle da duração do consumo alimentar, influenciando na quantidade de alimento ingerido em cada refeição (MEGUID *et al.*, 1995; MEGUID *et al.*, 1997). Especificamente, a ingestão de alimentos é acompanhada de um aumento na liberação de DA no VMH de ratos, porém esta resposta é maior e mais demorada em ratos Zucker obesos, sugerindo que maiores concentrações do neurotransmissor são necessárias para induzir saciedade (OROSCO *et al.*, 1995).

Fetissov *et al.* (2002) verificaram uma menor expressão de receptor D₂ no VMH e na LHA e maior expressão de receptor D₁ no VMH de ratos Zucker obesos. No mesmo estudo, a administração de um antagonista de receptor D₂ (sulpirida) no VMH, logo antes do fornecimento do alimento, aumentou a ingestão alimentar medida durante uma hora em ratos obesos em comparação aos controles que receberam salina. Estes resultados revelam que alterações no sistema dopaminérgico influenciam o padrão alimentar modificando a quantidade de alimento ingerido. Outro estudo mostrou que as concentrações de 5-HT e DA no VMH em jejum são menores em ratos obesos em comparação aos magros, porém a liberação dos dois neurotransmissores em resposta à ingestão alimentar não foi diferente (MEGUID *et al.*, 2000). Contudo, existem evidências de que a atividade destes sistemas esteja associada ao tipo de macronutriente consumido, o qual gera sinalização específica em regiões cerebrais que controlam a ingestão alimentar (FERNSTROM, 1985; ROUCH *et al.*, 1999). Em nosso estudo uma maior relação 5-HT/ DA após 17 semanas de consumo de dieta de alta palatabilidade pode estar relacionada a um desbalanço nos mecanismos de apetite e saciedade.

O treinamento físico de oito semanas aumentou o desempenho físico dos animais alimentados com dieta padrão ou de alta palatabilidade em comparação aos respectivos controles (TABELA 4.5). No entanto, a velocidade máxima e o tempo de exercício no 3º TP foram menores em animais alimentados com a dieta de alta palatabilidade treinados em comparação ao controle alimentado com dieta padrão treinado. Estes resultados podem ser justificados pela maior massa corporal dos animais alimentados com dieta de alta palatabilidade, o que interferiu diretamente na interrupção voluntária do exercício.

De acordo com a nossa hipótese, o treinamento físico diminuiu a ingestão alimentar (FIGURA 4.3A) e reduziu a eficiência energética (FIGURA 4.4) dos animais, independente do tipo de alimento fornecido. Consequentemente houve um menor ganho de massa corporal em ratos treinados, tanto alimentados com dieta padrão, quanto com dieta de alta palatabilidade, em comparação aos controles (FIGURA 4.3B). Além disso, nossos dados mostram que o desempenho físico correlacionou-se com a ingestão alimentar de maneira direta nos animais treinados alimentados com dieta padrão (FIGURA 4.5B) e inversa nos treinados alimentados com dieta de alta palatabilidade (FIGURA 4.5D). Portanto, podemos sugerir que o desempenho físico pode ser influenciado por modificações no balanço energético induzidas pelo consumo de alimentos palatáveis.

Possivelmente o treinamento físico ocasionou um balanço energético negativo, devido à associação de um menor consumo alimentar com um maior gasto energético pelo exercício físico. Apesar disso, não houve diferença no tecido adiposo total dos animais treinados em ambas as dietas em comparação aos controles. Contudo, quando analisados separadamente, verificamos uma tendência dos tecidos retroperitoneal e epididimal serem menores nos ratos treinados, alimentados com dieta padrão e dieta de alta palatabilidade, em comparação aos não treinados ($p = 0,07$), respectivamente.

Como descrito anteriormente, a dieta de alta palatabilidade aumentou a concentração plasmática de leptina no repouso (TABELA 4.6). No entanto, o treinamento físico não preveniu este aumento, sugerindo que a dieta de alta palatabilidade possa suplantiar o efeito do treinamento físico sobre a produção desta citocina pelo tecido adiposo. Este resultado pode ser justificado pela alta variabilidade (> 60%) nas análises hormonais, assim como a ausência de diferenças no tecido adiposo entre animais treinados em comparação aos controles nas diferentes dietas. Contudo, podemos sugerir que os animais alimentados com dieta de alta palatabilidade tornaram-se resistentes à leptina mesmo quando submetidos a oito semanas de treinamento físico.

Apesar das respostas de redução da ingestão alimentar e menor ganho de peso corporal em função do treinamento físico, não foram observadas no presente estudo diferenças nas concentrações de 5-HT e seu metabólito, e nem na relação 5-HIAA/5-HT no hipotálamo (FIGURA 4.6) ou no hipocampo (FIGURA 4.11) durante o repouso em animais treinados em comparação aos controles nas diferentes dietas. Entretanto, animais treinados alimentados com dieta de alta palatabilidade apresentaram uma correlação inversa entre a relação 5-HIAA/ 5-HT, tanto do hipotálamo (FIGURA 4.7D) quanto do hipocampo (FIGURA 4.12D) e o desempenho físico. Além disso, foi verificado que o treinamento físico aboliu a relação positiva entre a estimativa do *turnover* serotoninérgico hipotalâmico e a ingestão alimentar observada em animais alimentados com a dieta de alta palatabilidade. Já no hipocampo, esta relação foi mantida (FIGURA 4.13D). Dessa forma, estas evidências fortalecem nossa hipótese de que as modificações no desempenho físico e no balanço energético induzidas pela dieta de alta palatabilidade possam ser moduladas pela atividade serotoninérgica central.

Em um estudo clássico, Brown *et al.*, (1979) verificaram um aumento no conteúdo de 5-HT basal no córtex, cerebelo e mesencéfalo de ratos treinados independente do tipo de dieta. Este resultado foi associado a uma menor massa corporal dos animais treinados em comparação aos sedentários. Dwyer e Browning (2000) investigaram o

desempenho de ratos treinados durante exercício até a fadiga em resposta à injeção intraperitoneal de m-CPP. Estes autores sugerem que o treinamento físico de seis semanas possa reduzir a sensibilidade do sistema serotoninérgico, a qual pode ser justificada por uma maior tolerância à fadiga induzida pelo aumento de 5-HT central durante o exercício físico.

Evidências indicam que a magnitude de redução da sensibilidade de receptores 5-HT_{1B} no hipocampo de ratos treinados é diretamente proporcional a intensidade do treinamento físico (CHENNAOUI *et al.*, 2000). Mais tarde, estes autores, Chennaoui *et al.*, (2001) compararam os efeitos de um treinamento moderado e intenso sobre a expressão de RNAm de 5-HT_{1B} em diferentes regiões do cérebro de ratos. Mostraram que nenhum dos treinamentos alterou a expressão de RNAm de 5-HT_{1B} no estriado ou no hipocampo dos animais. Entretanto, houve uma redução na expressão do receptor serotoninérgico no cerebelo somente nos ratos submetidos ao treinamento intenso. Já, no córtex frontal esta redução ocorreu em ratos treinados, independente da intensidade sugerindo uma possível diferença regional nos efeitos do treinamento físico na expressão de receptor 5-HT_{1B}.

O efeito anoréxico e o menor ganho de massa corporal induzidos pelo treinamento físico neste estudo corroboram os achados em ratos com acesso livre à corrida na roda. Neste modelo, o aumento da atividade espontânea na roda é acompanhado de uma redução transitória na ingestão alimentar e um menor ganho de massa corporal (KAWAGUCHI *et al.*, 2005). Greenwood *et al.* (2005) demonstraram que a atividade física na roda reduziu a expressão de 5-HTT e 5-HT_{1B} e aumentou a expressão de 5-HT_{1A} na rafe de maneira tempo dependente. Além disso, os pesquisadores observaram um menor ganho de massa corporal nos animais a partir de três semanas de atividade na roda.

O sistema serotoninérgico em diferentes regiões cerebrais é influenciado por diversos neurotransmissores, tais como DA. No presente estudo a concentração de DA não foi diferente entre animais treinados e não treinados nas diferentes dietas. Meeusen *et al.* (1997), através de técnica de microdiálise, indicaram que o treinamento físico reduziu as concentrações basais de DA no estriado de ratos, porém a liberação do neurotransmissor induzida pelo exercício não foi diferente em relação aos sedentários. Desta forma, sugere-se que a sensibilidade ao estímulo agudo do exercício é mantida apesar de menores concentrações basais de DA pós treinamento. Guimarães *et al.* (dados não publicados) mostraram que o treinamento de corrida em esteira modificou a expressão de receptores D₁ e D₂ no PVN, a qual foi associada ao maior desempenho físico de ratos treinados submetidos ao exercício até a fadiga.

É sabido que o sistema serotoninérgico em diferentes regiões cerebrais é influenciado por diversos neurotransmissores, tais como DA, e tem sido evidenciado, que, especificamente no hipotálamo a 5-HT e a DA interagem na regulação do comportamento alimentar (MEGUID *et al.*, 2000). Em nosso estudo o treinamento físico preveniu o aumento da relação 5-HT/ DA no hipotálamo dos animais alimentados com dieta de alta palatabilidade. Além disso, o treinamento levou a redução da ingestão alimentar e da eficiência energética, além de menor ganho de massa corporal, independente da dieta. Portanto, podemos sugerir que o treinamento físico normaliza a interação entre 5-HT e DA no hipotálamo de ratos alimentados com a dieta de alta palatabilidade.

6 CONCLUSÃO

Diante de nossos resultados, podemos concluir que a dieta de alta palatabilidade modificou o desempenho físico e a modulação alimentar dos ratos. Contudo o treinamento físico alterou o balanço energético independente da dieta, sem modificar a resposta do sistema serotoninérgico central dos animais em repouso. Entretanto, não podemos excluir a possível modulação do treinamento físico sobre a atividade do sistema serotoninérgico central, devido a reversão do aumento na relação 5-HT/DA induzido pela dieta de alta palatabilidade.

REFERÊNCIAS

ACWORTH I, NICHOLASS J, MORGAN B ; NEWSHOLME EA. Effect of sustained exercise on concentrations of plasma aromatic and branched-chain amino acids and brain amines. *Biochemical and biophysical research communications* 137, 149-153, 1986.

ANAND BK ; BROBECK JR. Localization of a "feeding center" in the hypothalamus of the rat. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. Society for Experimental Biology and Medicine* 77, 323-324, 1951.

ARAI R, KARASAWA N, NAGATSU T ; NAGATSU I. Exogenous L-5-hydroxytryptophan is decarboxylated in neurons of the substantia nigra pars compacta and locus coeruleus of the rat. *Brain research* 669, 145-149, 1995.

BAGDADE JD, BIERMAN EL ; PORTE D, JR. The significance of basal insulin levels in the evaluation of the insulin response to glucose in diabetic and nondiabetic subjects. *The Journal of clinical investigation* 46, 1549-1557, 1967.

BANAS SM, ROUCH C, KASSIS N, MARKAKI EM ; GEROZISSIS K. A dietary fat excess alters metabolic and neuroendocrine responses before the onset of metabolic diseases. *Cellular and molecular neurobiology* 29, 157-168, 2009.

BASKIN DG, BREININGER JF ; SCHWARTZ MW. Leptin receptor mRNA identifies a subpopulation of neuropeptide Y neurons activated by fasting in rat hypothalamus. *Diabetes* 48, 828-833. 1999.

BATTERHAM RL, COWLEY MA, SMALL CJ, HERZOG H, COHEN MA, DAKIN CL, WREN AM, BRYNES AE, LOW MJ, GHATEI MA, CONE RD ; BLOOM SR. Gut hormone PYY(3-36) physiologically inhibits food intake. *Nature* 418, 650-654, 2002.

BELLISLE F ; LEMAGNEN J. The analysis of human feeding patterns - the edogram. *Appetite* 1, 141-150, 1980.

BILLINGTON CJ, BRIGGS JE, GRACE M ; LEVINE AS. Effects of intracerebroventricular injection of neuropeptide Y on energy metabolism. *The American journal of physiology* 260, R321-327, 1991.

BLOMSTRAND E, PERRETT D, PARRY-BILLINGS M ; NEWSHOLME EA. Effect of sustained exercise on plasma amino acid concentrations and on 5-hydroxytryptamine metabolism in six different brain regions in the rat. *Acta physiologica Scandinavica* 136, 473-481, 1989.

BRADFORD MM. 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, 1976.

BRAY GAF, J ; YORK, D.A.. Neuroendocrine control of the development of obesity: understanding gained from studies of experimental animal models. *Front. Neuroendocrinology* 11, 128-181, 1990.

BROOCKS A, MEYER T, GEORGE A, HILLMER-VOGEL U, MEYER D, BANDELOW B, HAJAK G, BARTMANN U, GLEITER CH ; RUTHER E. Decreased neuroendocrine responses to meta-chlorophenylpiperazine (m-CPP) but normal responses to ipsapirone in marathon runners. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology* 20, 150-161, 1999.

BROOCKS A, MEYER T, GLEITER CH, HILLMER-VOGEL U, GEORGE A, BARTMANN U ; BANDELOW B. Effect of aerobic exercise on behavioral and neuroendocrine responses to meta-chlorophenylpiperazine and to ipsapirone in untrained healthy subjects. *Psychopharmacology* 155, 234-241, 2001.

BROOKS GA ; WHITE TP. Determination of metabolic and heart rate responses of rats to treadmill exercise. *Journal of applied physiology: respiratory, environmental and exercise physiology* 45, 1009-1015, 1978.

BROWN BS, PAYNE T, KIM C, MOORE G, KREBS P ; MARTIN W. Chronic response of rat brain norepinephrine and serotonin levels to endurance training. *Journal of applied physiology: respiratory, environmental and exercise physiology* 46, 19-23, 1979.

BUCKERIDGE MST, M.A.S.. *Composição polissacarídica: Estrutura da parede celular e fibra alimentar*, 2001.

BUSNARDO C, TAVARES RF, RESSTEL LB, ELIAS LL ; CORREA FM. Paraventricular nucleus modulates autonomic and neuroendocrine responses to acute restraint stress in rats. *Autonomic neuroscience : basic & clinical* 158, 51-57, 2010.

CALAPAI G, CORICA F, CORSONELLO A, SAUTEBIN L, DI ROSA M, CAMPO GM, BUEMI M, MAURO VN ; CAPUTI AP. Leptin increases serotonin turnover by inhibition of brain nitric oxide synthesis. *The Journal of clinical investigation* 104, 975-982, 1999.

CAPERUTO EC, DOS SANTOS RV, MELLO MT ; COSTA ROSA LF. Effect of endurance training on hypothalamic serotonin concentration and performance. *Clinical and experimental pharmacology & physiology* 36, 189-191, 2009.

CECCHI HM, ed. *Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos*. Editora Unicamp, Campinas, 2003.

CECI F, CANGIANO C, CAIRELLA M, CASCINO A, DEL BEN M, MUSCARITOLI M, SIBILIA L ; ROSSI FANELLI F. The effects of oral 5-hydroxytryptophan administration on feeding behavior in obese adult female subjects. *Journal of neural transmission* 76, 109-117, 1989.

CHAOULOFF F. Physical exercise and brain monoamines: a review. *Acta physiologica Scandinavica* 137, 1-13, 1989.

CHAOULOFF F. Effects of acute physical exercise on central serotonergic systems. *Medicine and science in sports and exercise* 29, 58-62, 1997.

CHAOULOFF F, ELGHOZI JL, GUEZENNEC Y; LAUDE D. Effects of conditioned running on plasma, liver and brain tryptophan and on brain 5-hydroxytryptamine metabolism of the rat. *British journal of pharmacology* 86, 33-41, 1985.

CHARNAY Y, CUSIN I, VALLET PG, MUZZIN P, ROHNER-JEANRENAUD F; BOURAS C. Intracerebroventricular infusion of leptin decreases serotonin transporter binding sites in the frontal cortex of the rat. *Neuroscience letters* 283, 89-92, 2000.

CHENNAOUI M, DROGOU C, GOMEZ-MERINO D, GRIMALDI B, FILLION G; GUEZENNEC CY. Endurance training effects on 5-HT(1B) receptors mRNA expression in cerebellum, striatum, frontal cortex and hippocampus of rats. *Neuroscience letters* 307, 33-36, 2001.

CHENNAOUI M, GRIMALDI B, FILLION MP, BONNIN A, DROGOU C, FILLION G; GUEZENNEC CY. Effects of physical training on functional activity of 5-HT1B receptors in rat central nervous system: role of 5-HT-moduline. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology* 361, 600-604, 2000.

CHOI S, BLAKE V, COLE S; FERNSTROM JD. Effects of chronic fenfluramine administration on hypothalamic neuropeptide mRNA expression. *Brain research* 1087, 83-86, 2006.

CHOI S, JONAK EM, SIMPSON L, PATIL V; FERNSTROM JD. Intermittent, chronic fenfluramine administration to rats repeatedly suppresses food intake despite substantial brain serotonin reductions. *Brain research* 928, 30-39, 2002.

CNOP M, LANDCHILD MJ, VIDAL J, HAVEL PJ, KNOWLES NG, CARR DR, WANG F, HULL RL, BOYKO EJ, RETZLAFF BM, WALDEN CE, KNOPP RH; KAHN SE. The concurrent accumulation of intra-abdominal and subcutaneous fat explains the

association between insulin resistance and plasma leptin concentrations : distinct metabolic effects of two fat compartments. *Diabetes* 51, 1005-1015, 2002.

COLLIN M, HAKANSSON-OVESJO ML, MISANE I, OGREN SO ; MEISTER B. Decreased 5-HT transporter mRNA in neurons of the dorsal raphe nucleus and behavioral depression in the obese leptin-deficient ob/ob mouse. *Brain research. Molecular brain research* 81, 51-61, 2000.

CONSIDINE RV, SINHA MK, HEIMAN ML, KRIAUCIUNAS A, STEPHENS TW, NYCE MR, OHANNESIAN JP, MARCO CC, MCKEE LJ, BAUER TL ; et al.. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *The New England journal of medicine* 334, 292-295, 1996.

CORDEIRO LMS, GUIMARÃES JB; WANNER, SP, MIRANDA, RM, LA GUARDIA, RB, MARUBAYASHI, U; SOARES, DD. Inhibition of tryptophan-hydroxylase modulates core temperature and abolishes fatigue induced by central tryptophan in exercising rats. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*, in press, 2012

COSKUN S, OZER C, GONUL B, TAKE G ; ERDOGAN D. The effect of repeated tryptophan administration on body weight, food intake, brain lipid peroxidation and serotonin immunoreactivity in mice. *Molecular and cellular biochemistry* 286, 133-138, 2006.

COWLEY MA, CONE RD, ENRIORI P, LOUISELLE I, WILLIAMS SM ; EVANS AE. Electrophysiological actions of peripheral hormones on melanocortin neurons. *Annals of the New York Academy of Sciences* 994, 175-186, 2003.

COWLEY MA, SMART JL, RUBINSTEIN M, CERDAN MG, DIANO S, HORVATH TL, CONE RD; LOW MJ. Leptin activates anorexigenic POMC neurons through a neural network in the arcuate nucleus. *Nature* 411, 480-484, 2001.

DAVIS JM, ALDERSON NL; WELSH RS. Serotonin and central nervous system fatigue: nutritional considerations. *The American journal of clinical nutrition* 72, 573S-578S, 2000.

DE LIMA DC, SILVEIRA SA, HAIBARA AS; COIMBRA CC. The enhanced hyperglycemic response to hemorrhage hypotension in obese rats is related to an impaired baroreflex. *Metabolic brain disease* 23, 361-373, 2008.

DEL PARIGI A, GAUTIER JF, CHEN KW, SALBE AD, RAVUSSIN E, REIMAN E; TATARANNI PA. Neuroimaging and obesity - mapping the brain responses to hunger and satiation in humans using positron emission tomography. In *Lipids and Insulin Resistance: the role of fatty acid metabolism and fuel partitioning*, vol. 967. ed. Klimes ISEHBVRE, pp. 389-397, 2002.

DEY S, SINGH RH; DEY PK. Exercise training: significance of regional alterations in serotonin metabolism of rat brain in relation to antidepressant effect of exercise. *Physiology & behavior* 52, 1095-1099, 1992.

DOURISH CT, HUTSON PH; CURZON G. Para-chlorophenylalanine prevents feeding induced by the serotonin agonist 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino) tetralin (8-OH-DPAT). *Psychopharmacology* 89, 467-471, 1986.

DRYDEN S, MCCARTHY HD, MALABU UH, WARE M ; WILLIAMS G. Increased neuropeptide Y concentrations in specific hypothalamic nuclei of the rat following treatment with methysergide: evidence that NPY may mediate serotonin's effects on food intake. *Peptides* 14, 791-796, 1993.

DRYDEN S, WANG Q, FRANKISH HM & WILLIAMS G. Differential effects of the 5-HT 1B/2C receptor agonist mCPP and the 5-HT1A agonist flesinoxan on hypothalamic neuropeptide Y in the rat: evidence that NPY may mediate serotonin's effects on food intake. *Peptides* 17, 943-949, 1996.

DWYER D; BROWNING J. Endurance training in Wistar rats decreases receptor sensitivity to a serotonin agonist. *Acta physiologica Scandinavica* 170, 211-216, 2000.

ELIAS CF, ASCHKENASI C, LEE C, KELLY J, AHIMA RS, BJORBAEK C, FLIER JS, SAPER CB; ELMQUIST JK. Leptin differentially regulates NPY and POMC neurons projecting to the lateral hypothalamic area. *Neuron* 23, 775-786, 1999.

EVANGELISTA FS, MARTUCHI SE, NEGRAO CE; BRUM PC. Loss of resting bradycardia with detraining is associated with intrinsic heart rate changes. *Brazilian journal of medical and biological research* 38, 1141-1146, 2005.

FADDA F. Tryptophan-Free Diets: A Physiological Tool to Study Brain Serotonin Function. *News in physiological sciences : an international journal of physiology produced jointly by the International Union of Physiological Sciences and the American Physiological Society* 15, 260-264, 2000.

FARR SA, BANKS WA; MORLEY JE. Effects of leptin on memory processing. *Peptides* 27, 1420-1425, 2006.

FERNANDEZ-GALAZ MC, FERNANDEZ-AGULLO T, CARRASCOSA JM, ROS M; GARCIA-SEGURA LM. Leptin accumulation in hypothalamic and dorsal raphe neurons is inversely correlated with brain serotonin content. *Brain research* 1329, 194-202, 2010.

FERNSTROM JD. Dietary effects on brain serotonin synthesis: relationship to appetite regulation. *The American journal of clinical nutrition* 42, 1072-1082, 1985.

FERNSTROM JD. Dietary amino acids and brain function. *Journal of the American Dietetic Association* 94, 71-77, 1994.

FERNSTROM JD; FERNSTROM MH. Exercise, serum free tryptophan, and central fatigue. *The Journal of nutrition* 136, 553S-559S, 2006.

FERNSTROM JD; WURTMAN RJ. Brain serotonin content: physiological dependence on plasma tryptophan levels. *Science* 173, 149-152, 1971.

FERNSTROM JD; WURTMAN RJ. Elevation of plasma tryptophan by insulin in rat. *Metabolism: clinical and experimental* 21, 337-342, 1972.

FERREIRA MB, MARIA TEREZA S. Diferenças sexuais no desempenho motor em crianças: influencia da adiposidade corporal. *Revista Paulista de Educação Física* 12, 181-192, 1998.

FETISSOV SO, MEGUID MM, CHEN C; MIYATA G. Synchronized release of dopamine and serotonin in the medial and lateral hypothalamus of rats. *Neuroscience* 101, 657-663, 2000a.

FETISSOV SO, MEGUID MM, SATO T; ZHANG LH. Expression of dopaminergic receptors in the hypothalamus of lean and obese Zucker rats and food intake. *American journal of physiology: regulatory, integrative and comparative physiology* 283, R905-910, 2002.

FLETCHER PJ; PATERSON IA. A comparison of the effects of tryptamine and 5-hydroxytryptamine on feeding following injection into the paraventricular nucleus of the hypothalamus. *Pharmacology, biochemistry, and behavior* 32, 907-911, 1989.

FOLTIN RW, HANEY M, COMER SD; FISCHMAN MW. Effect of fluoxetine on food intake of humans living in a residential laboratory. *Appetite* 27, 165-181, 1996.

FREDERICH RC, HAMANN A, ANDERSON S, LOLLMANN B, LOWELL BB; FLIER JS. Leptin levels reflect body lipid content in mice: evidence for diet-induced resistance to leptin action. *Nature medicine* 1, 1311-1314, 1995.

FULLER RW; SNODDY HD. Serotonin receptor subtypes involved in the elevation of serum corticosterone concentration in rats by direct- and indirect-acting serotonin agonists. *Neuroendocrinology* 52, 206-211, 1990.

GARCIA-ALCOCER G, RODRIGUEZ A, MORENO-LAYSECA P, BERUMEN LC, ESCOBAR J; MILEDI R. Serotonin receptor 5-HT_{5A} in rat hippocampus decrease by leptin treatment. *Neuroscience letters* 486, 171-173, 2010.

Garfield AS; Heisler LK. Pharmacological targeting of the serotonergic system for the treatment of obesity. *The Journal of physiology* 587, 49-60, 2009.

GIANNAKOPOULOS G, GALANOPOULOU P, DAIFOTIS Z; COUVARIS C. Effects of mesulergine treatment on diet selection, brain serotonin (5-HT) and dopamine (DA) turnover in free feeding rats. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry* 22, 803-813, 1998.

GOMEZ-MERINO D, BEQUET F, BERTHELOT M, CHENNAOUI M; GUEZENNEC CY. Site-dependent effects of an acute intensive exercise on extracellular 5-HT and 5-HIAA levels in rat brain. *Neuroscience letters* 301, 143-146, 2001.

GREENWOOD BN, FOLEY TE, DAY HE, BURHANS D, BROOKS L, CAMPEAU S; FLESHNER M. Wheel running alters serotonin (5-HT) transporter, 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, and alpha 1b-adrenergic receptor mRNA in the rat raphe nuclei. *Biological psychiatry* 57, 559-568, 2005.

GRILLO CA, PIROLI GG, EVANS AN, MACHT VA, WILSON SP, SCOTT KA, SAKAI RR, MOTT DD; REAGAN LP. Obesity/hyperleptinemic phenotype adversely affects

hippocampal plasticity: effects of dietary restriction. *Physiology & behavior* 104, 235-241, 2011.

GUIMARAES JB, WANNER SP, MACHADO SC, LIMA MR, CORDEIRO LM, PIRES W, LA GUARDIA RB, SILAMI-GARCIA E, RODRIGUES LO; LIMA NR. Fatigue is mediated by cholinceptors within the ventromedial hypothalamus independent of changes in core temperature. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*, 2011.

HAHN TM, BREININGER JF, BASKIN DG; SCHWARTZ MW. Coexpression of Agrp and NPY in fasting-activated hypothalamic neurons. *Nature neuroscience* 1, 271-272, 1998.

HARDMAN AE. Physical activity and cancer risk. *The Proceedings of the Nutrition Society* 60, 107-113, 2001.

HARROLD JA, WIDDOWSON PS & WILLIAMS G. Altered energy balance causes selective changes in melanocortin-4(MC4-R), but not melanocortin-3 (MC3-R), receptors in specific hypothalamic regions: further evidence that activation of MC4-R is a physiological inhibitor of feeding. *Diabetes* 48, 267-271, 1999.

HARVEY J. Leptin regulation of neuronal excitability and cognitive function. *Current opinion in pharmacology* 7, 643-647, 2007.

HAY-SCHMIDT A, HELBOE L & LARSEN PJ. Leptin receptor immunoreactivity is present in ascending serotonergic and catecholaminergic neurons of the rat. *Neuroendocrinology* 73, 215-226, 2001.

HEISLER LK, JOBST EE, SUTTON GM, ZHOU L, BOROK E, THORNTON-JONES Z, LIU HY, ZIGMAN JM, BALTHASAR N, KISHI T, LEE CE, ASCHKENASI CJ, ZHANG CY, YU J, BOSS O, MOUNTJOY KG, CLIFTON PG, LOWELL BB, FRIEDMAN JM, HORVATH T, BUTLER AA, ELMQUIST JK; COWLEY MA. Serotonin reciprocally regulates melanocortin neurons to modulate food intake. *Neuron* 51, 239-249, 2006.

HEISLER LK, PRONCHUK N, NONOGAKI K, ZHOU L, RABER J, TUNG L, YEO GS, O'RAHILLY S, COLMERS WF, ELMQUIST JK; TECOTT LH. Serotonin activates the hypothalamic-pituitary-adrenal axis via serotonin 2C receptor stimulation. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 27, 6956-6964, 2007.

HETHERINGTON AW; RANSON, SW. Hypothalamic lesions and adiposity in rat. *Anat Rec* 78, 149-172, 1940.

HORACEK J, KUZMIAKOVA M, HOSCHL C, ANDEL M; BAHBONH R. The relationship between central serotonergic activity and insulin sensitivity in healthy volunteers. *Psychoneuroendocrinology* 24, 785-797, 1999.

HUTSON PH, SARNA GS, O'CONNELL MT; CURZON G. Hippocampal 5-HT synthesis and release in vivo is decreased by infusion of 8-OHDPAT into the nucleus raphe dorsalis. *Neuroscience letters* 100, 276-280, 1989.

JAKEMAN PM, HAWTHORNE JE, MAXWELL SR, KENDALL MJ; HOLDER G. Evidence for downregulation of hypothalamic 5-hydroxytryptamine receptor function in endurance-trained athletes. *Experimental physiology* 79, 461-464, 1994.

KAWAGUCHI M, SCOTT KA, MORAN TH; BI S. Dorsomedial hypothalamic corticotropin-releasing factor mediation of exercise-induced anorexia. *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology* 288, R1800-1805, 2005.

KELLEY AE, BALDO BA; PRATT WE. A proposed hypothalamic-thalamic-striatal axis for the integration of energy balance, arousal, and food reward. *The Journal of comparative neurology* 493, 72-85, 2005.

KERSTEN S. Mechanisms of nutritional and hormonal regulation of lipogenesis. *EMBO reports* 2, 282-286, 2001.

KITAHAMA K, JOUVET A, FUJIMIYA M, NAGATSU I; ARAI R. 5-Hydroxytryptophan (5-HTP) uptake and decarboxylation in the kitten brain. *Journal of neural transmission* 109, 683-689, 2002.

LACERDA AC, MARUBAYASHI U; COIMBRA CC. Nitric oxide pathway is an important modulator of heat loss in rats during exercise. *Brain research bulletin* 67, 110-116, 2005.

LAFLAMME N, BOVETTO S, RICHARD D; RIVEST S. Effect of dexfenfluramine on the transcriptional activation of CRF and its type 1 receptor within the paraventricular nucleus of the rat hypothalamus. *British journal of pharmacology* 117, 1021-1034, 1996.

LANGFORT J, BARANCZUK E, PAWLAK D, CHALIMONIUK M, LUKACOVA N, MARSALA J; GORSKI J. The effect of endurance training on regional serotonin metabolism in the brain during early stage of detraining period in the female rat. *Cellular and molecular neurobiology* 26, 1327-1342, 2006.

LEIBEL RL, ROSENBAUM M; HIRSCH J. Changes in energy expenditure resulting from altered body weight. *The New England journal of medicine* 332, 621-628, 1995.

LIMA NR, COIMBRA CC; MARUBAYASHI U. Effect of intracerebroventricular injection of atropine on metabolic responses during exercise in untrained rats. *Physiology & behavior* 64, 69-74, 1998.

LIPOSITS Z, PHELIX C; PAULL WK. Synaptic interaction of serotonergic axons and corticotropin releasing factor (CRF) synthesizing neurons in the hypothalamic paraventricular nucleus of the rat. A light and electron microscopic immunocytochemical study. *Histochemistry* 86, 541-549, 1987.

MACKENZIE RG, HOEBEL BG, DUCRET RP; TRULSON ME. Hyperphagia following intra-ventricular para-chlorophenylalanine-methyl, leucine-methyl or tryptophan-methyl esters- lack of correlation with whole brain-serotonin levels. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 10, 951-955, 1979.

MARSHALL S, BACOTE V; TRAXINGER RR. Discovery of a metabolic pathway mediating glucose-induced desensitization of the glucose transport system. Role of hexosamine biosynthesis in the induction of insulin resistance. *The Journal of biological chemistry* 266, 4706-4712, 1991.

MCLAUGHLIN CL; BAILE CA. Ontogeny of feeding behavior in the Zucker obese rat. *Physiology & behavior* 26, 607-612, 1981.

MEEUSEN R, SMOLDERS I, SARRE S, DE MEIRLEIR K, KEIZER H, SERNEELS M, EBINGER G; MICHOTTE Y. Endurance training effects on neurotransmitter release in rat striatum: an in vivo microdialysis study. *Acta physiologica Scandinavica* 159, 335-341, 1997.

MEGUID MM, FETISSOV SO, BLAHA V; YANG ZJ. Dopamine and serotonin VMN release is related to feeding status in obese and lean Zucker rats. *Neuroreport* 11, 2069-2072, 2000.

MEGUID MM, FETISSOV SO, MIYATA G; TORELLI GF. Feeding pattern in obese Zucker rats after dopaminergic and serotonergic LHA grafts. *Neuroreport* 10, 1049-1053, 1999.

MEGUID MM, YANG ZJ; KOSEKI M. Eating induced rise in LHA-dopamine correlates with meal size in normal and bulbectomized rats. *Brain research bulletin* 36, 487-490, 1995.

MEGUID MM, YANG ZJ; LAVIANO A. Meal size and number: relationship to dopamine levels in the ventromedial hypothalamic nucleus. *The American journal of physiology* 272, R1925-1930, 1997.

NADERALI EK, ESTADELLA D, ROCHA M, PICKAVANCE LC, FATANI S, DENIS RG; WILLIAMS G. A fat-enriched, glucose-enriched diet markedly attenuates adiponectin mRNA levels in rat epididymal adipose tissue. *Clinical science* 105, 403-408, 2003.

NADERALI EK, PICKAVANCE LC, WILDING JP; WILLIAMS G. Diet-induced endothelial dysfunction in the rat is independent of the degree of increase in total body weight. *Clinical science* 100, 635-641, 2001.

NEWSHOLME EA, BLOMSTRAND E; EKBLUM B. Physical and mental fatigue: metabolic mechanisms and importance of plasma amino acids. *British medical bulletin* 48, 477-495, 1992.

NONOGAKI K, NOZUE K, TAKAHASHI Y, YAMASHITA N, HIRAOKA S, KUMANO H, KUBOKI T; OKA Y. Fluvoxamine, a selective serotonin reuptake inhibitor, and 5-HT_{2C} receptor inactivation induce appetite-suppressing effects in mice via 5-HT_{1B} receptors. *The international journal of neuropsychopharmacology / official scientific journal of the Collegium Internationale Neuropsychopharmacologicum* 10, 675-681, 2007.

NONOGAKI K, STRACK AM, DALLMAN MF; TECOTT LH. Leptin-independent hyperphagia and type 2 diabetes in mice with a mutated serotonin 5-HT_{2C} receptor gene. *Nature medicine* 4, 1152-1156, 1998.

OHLIGER-FRERKING P, HORWITZ BA; HOROWITZ JM. Serotonergic dorsal raphe neurons from obese Zucker rats are hyperexcitable. *Neuroscience* 120, 627-634, 2003.

OLDENDORF WH; SZABO J. Amino acid assignment to one of three blood-brain barrier amino acid carriers. *The American journal of physiology* 230, 94-98, 1976.

OOMURA Y, HORI N, SHIRAISHI T, FUKUNAGA K, TAKEDA H, TSUJI M, MATSUMIYA T, ISHIBASHI M, AOU S, LI XL, KOHNO D, URAMURA K, SOUGAWA H, YADA T, WAYNER MJ; SASAKI K. Leptin facilitates learning and memory performance and enhances hippocampal CA1 long-term potentiation and CaMK II phosphorylation in rats. *Peptides* 27, 2738-2749, 2006.

OROSCO M; NICOLAIDIS S. Spontaneous feeding-related monoaminergic changes in the rostromedial hypothalamus revealed by microdialysis. *Physiology & behavior* 52, 1015-1019, 1992.

OROSCO M; NICOLAIDIS S. Insulin and glucose-induced changes in feeding and medial hypothalamic monoamines revealed by microdialysis in rats. *Brain research bulletin* 33, 289-297, 1994.

OROSCO M, ROUCH C, MEILE MJ; NICOLAIDIS S. Spontaneous feeding-related monoamine changes in rostromedial hypothalamus of the obese Zucker rat: a microdialysis study. *Physiology & behavior* 57, 1103-1106, 1995.

PARK S, HARROLD JA, WIDDOWSON PS; WILLIAMS G. Increased binding at 5-HT(1A), 5-HT(1B), and 5-HT(2A) receptors and 5-HT transporters in diet-induced obese rats. *Brain research* 847, 90-97, 1999.

PESTELL RG, CROCK PA, WARD GM, ALFORD FP; BEST JD. Fenfluramine increases insulin action in patients with NIDDM. *Diabetes care* 12, 252-258, 1989.

PIETRASZEK MH, TAKADA Y, YAN D, URANO T, SERIZAWA K; TAKADA A. Relationship between serotonergic measures in periphery and the brain of mouse. *Life sciences* 51, 75-82, 1992.

PIJL H, KOPPESSCHAAR HP, WILLEKENS FL, OP DE KAMP I, VELDHUIS HD; MEINDERS AE. Effect of serotonin re-uptake inhibition by fluoxetine on body weight

and spontaneous food choice in obesity. *International journal of obesity* 15, 237-242, 1991.

PITSILADIS YP, STRACHAN AT, DAVIDSON I; MAUGHAN RJ. Hyperprolactinaemia during prolonged exercise in the heat: evidence for a centrally mediated component of fatigue in trained cyclists. *Experimental physiology* 87, 215-226, 2002.

PRIMOLA-GOMES TN, PIRES W, RODRIGUES LO, COIMBRA CC, MARUBAYASHI U; LIMA NR. Activation of the central cholinergic pathway increases post-exercise tail heat loss in rats. *Neuroscience letters* 413, 1-5, 2007.

PRIVIERO F, DE NUCCI G, ANTUNES E; ZANESCO A. Negative chronotropic response to adenosine receptor stimulation in rat right atria after run training. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 31, 741-743, 2004.

RICARDO JA; KOH ET. Anatomical evidence of direct projections from the nucleus of the solitary tract to the hypothalamus, amygdala, and other forebrain structures in the rat. *Brain research* 153, 1-26, 1978.

ROBERTS JA; ADAMS DB. The effect of level of nutrition on the development of resistance to *Haemonchus contortus* in sheep. *Australian veterinary journal* 67, 89-91, 1990.

RODRIGUES AG, LIMA NR, COIMBRA CC; MARUBAYASHI U. Evidence that exercise-induced heat storage is dependent on adrenomedullary secretion. *Physiology & behavior* 94, 463-467, 2008.

RODRIGUES LO, OLIVEIRA A, LIMA NR; MACHADO-MOREIRA CA. Heat storage rate and acute fatigue in rats. *Braz J Med Biol Res* 36, 131-135, 2003.

ROLLS ET. Taste, olfactory, and food texture processing in the brain, and the control of food intake. *Physiology & behavior* 85, 45-56, 2005.

ROUCH C, NICOLAIDIS S; OROSCO M. Determination, using microdialysis, of hypothalamic serotonin variations in response to different macronutrients. *Physiology & behavior* 65, 653-657, 1999.

ROUTH VH, HAMILTON JS, STERN JS; HORWITZ BA. Litter size, adrenalectomy and high fat diet alter hypothalamic monoamines in genetically lean (Fa/Fa) Zucker rats. *The Journal of nutrition* 123, 74-84, 1993..

ROUTH VH, STERN JS; HORWITZ BA. Serotonergic activity is depressed in the ventromedial hypothalamic nucleus of 12-day-old obese Zucker rats. *The American journal of physiology* 267, R712-719; 1994.

SAHU A. Minireview: A hypothalamic role in energy balance with special emphasis on leptin. *Endocrinology* 145, 2613-2620, 2004.

SALLER CF; STRICKER EM. Hyperphagia and increased growth in rats after intraventricular injection of 5,7-dihydroxytryptamine. *Science* 192, 385-387, 1976.

SAPER CB. Convergence of autonomic and limbic connections in the insular cortex of the rat. *The Journal of comparative neurology* 210, 163-173, 1982.

SCHEEN AJ, PAOLISSO G, SALVATORE T; LEFEBVRE PJ. Improvement of insulin-induced glucose disposal in obese patients with NIDDM after 1-wk treatment with d-fenfluramine. *Diabetes care* 14, 325-332, 1991.

SCHWARTZ RS, CAIN KC, SHUMAN WP, LARSON V, STRATTON JR, BEARD JC, KAHN SE, CERQUEIRA MD; ABRASS IB. Effect of intensive endurance training on

lipoprotein profiles in young and older men. *Metabolism: clinical and experimental* 41, 649-654, 1992.

SILVERSTONE PH, RUE JE, FRANKLIN M, HALLIS K, CAMPLIN G, LAVER D; COWEN PJ. The effects of administration of mCPP on psychological, cognitive, cardiovascular, hormonal and MHPG measurements in human volunteers. *International clinical psychopharmacology* 9, 173-178, 1994.

SOARES DD, COIMBRA CC; MARUBAYASHI U. Tryptophan-induced central fatigue in exercising rats is related to serotonin content in preoptic area. *Neuroscience letters* 415, 274-278, 2007.

SOARES DD, LIMA NR, COIMBRA CC; MARUBAYASHI U. Evidence that tryptophan reduces mechanical efficiency and running performance in rats. *Pharmacology, biochemistry, and behavior* 74, 357-362, 2003.

SOARES DD, LIMA NR, COIMBRA CC; MARUBAYASHI U. Intracerebroventricular tryptophan increases heating and heat storage rate in exercising rats. *Pharmacol Biochem Behav* 78, 255-261, 2004.

SPIEGEL TA, SHRAGER EE; STELLAR E. Responses of lean and obese subjects to preloads, deprivation, and palatability. *Appetite* 13, 45-69, 1989.

SPIEGELMAN BM; FLIER JS. Obesity and the regulation of energy balance. *Cell* 104, 531-543, 2001.

STANLEY BG, KYRKOULI SE, LAMPERT S; LEIBOWITZ SF. Neuropeptide Y chronically injected into the hypothalamus: a powerful neurochemical inducer of hyperphagia and obesity. *Peptides* 7, 1189-1192, 1986.

STEPHENS DN. Does the Lee obesity index measure general obesity? *Physiology & behavior* 25, 313-315, 1980.

STOECKEL LE, WELLER RE, COOK EW, 3RD, TWIEG DB, KNOWLTON RC; COX JE. Widespread reward-system activation in obese women in response to pictures of high-calorie foods. *NeuroImage* 41, 636-647, 2008.

STRUDER HK; WEICKER H. Physiology and pathophysiology of the serotonergic system and its implications on mental and physical performance. Part II. *International journal of sports medicine* 22, 482-497, 2001.

SZAWKA RE, RIBEIRO AB, LEITE CM, HELENA CV, FRANCI CR, ANDERSON GM, HOFFMAN GE; ANSELMO-FRANCI JA. Kisspeptin regulates prolactin release through hypothalamic dopaminergic neurons. *Endocrinology* 151, 3247-3257, 2010.

TATARANNI PA, GAUTIER JF, CHEN K, UECKER A, BANDY D, SALBE AD, PRATLEY RE, LAWSON M, REIMAN EM; RAVUSSIN E. Neuroanatomical correlates of hunger and satiation in humans using positron emission tomography. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 96, 4569-4574, 1999.

TRACY AL, JARRARD LE; DAVIDSON TL. The hippocampus and motivation revisited: appetite and activity. *Behavioural brain research* 127, 13-23, 2001.

VERAS-SILVA AS, MATTOS KC, GAVA NS, BRUM PC, NEGRAO CE; KRIEGER EM. Low-intensity exercise training decreases cardiac output and hypertension in spontaneously hypertensive rats. *The American journal of physiology* 273, H2627-2631, 1997.

VIELHABER K, RIEMANN D, FEIGE B, KUELZ A, KIRSCHBAUM C; VODERHOLZER U. Impact of experimentally induced serotonin deficiency by tryptophan depletion on saliva cortisol concentrations. *Pharmacopsychiatry* 38, 87-94, 2005.

VOLKOW ND, WANG GJ, FOWLER JS; TELANG F. Overlapping neuronal circuits in addiction and obesity: evidence of systems pathology. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences* 363, 3191-3200, 2008.

WEST AR; GALLOWAY MP. Regulation of serotonin-facilitated dopamine release in vivo: the role of protein kinase A activating transduction mechanisms. *Synapse* 23, 20-27, 1996.

WILDING JP, GILBEY SG, MANNAN M, ASLAM N, GHATEI MA; BLOOM SR. Increased neuropeptide Y content in individual hypothalamic nuclei, but not neuropeptide Y mRNA, in diet-induced obesity in rats. *The Journal of endocrinology* 132, 299-304, 1992.

YADAV VK, OURY F, SUDA N, LIU ZW, GAO XB, CONFAVREUX C, KLEMENHAGEN KC, TANAKA KF, GINGRICH JA, GUO XE, TECOTT LH, MANN JJ, HEN R, HORVATH TL; KARSENTY G. A serotonin-dependent mechanism explains the leptin regulation of bone mass, appetite, and energy expenditure. *Cell* 138, 976-989, 2009.

YAU JL, NOBLE J; SECKL JR. Acute restraint stress increases 5-HT₇ receptor mRNA expression in the rat hippocampus. *Neuroscience letters* 309, 141-144, 2001.

YEN TT, WONG DT; BEMIS KG. Reduction of food-consumption and body-weight of normal and obese mice by chronic treatment with fluoxetine - a serotonin reuptake inhibitor. *Drug Development Research* 10, 37-45, 1987.

YEOMANS MR. Palatability and the micro-structure of feeding in humans: the appetizer effect. *Appetite* 27, 119-133, 1996.