

Patrícia da Conceição Rocha Rabelo

**A CAPACIDADE INTRÍNSECA PARA O EXERCÍCIO
FÍSICO ESTÁ ASSOCIADA AOS SISTEMAS
DOPAMINÉRGICO E SEROTONÉRGICO EM ÁREAS
CEREBRAIS**

Belo Horizonte - MG

Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional

Universidade Federal de Minas Gerais

2012

Patrícia da Conceição Rocha Rabelo

**A CAPACIDADE INTRÍNSECA PARA O EXERCÍCIO
FÍSICO ESTÁ ASSOCIADA AOS SISTEMAS
DOPAMINÉRGICO E SEROTONÉRGICO EM ÁREAS
CEREBRAIS**

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 à obtenção do título de Mestre em Ciências do Esporte.

Área de concentração: Fisiologia do Exercício

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

Colaboradores: Prof. Dr. Cândido Celso Coimbra

Prof. Dr. Raphael Escorsim Szawka

Belo Horizonte - MG

Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional

Universidade Federal de Minas Gerais

2012

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Fisiologia do Exercício (LAFISE) da Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional, em parceria com: o Laboratório de Endocrinologia e Metabolismo e o Laboratório de Metabolismo Celular 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 Coordenadoria de Apoio ao Pessoal de Nível Superior (CAPES) e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG).

Dedico este trabalho aos meus pais, por todo amor a mim destinado, e ao Tiago, com quem eu venho construindo uma vida repleta de amor e companheirismo. Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

À população brasileira por custear os meus estudos e permitir a realização de pesquisas em universidades públicas.

A todos os animais utilizados no experimento, aos quais tentei tratar com o máximo de respeito e cuidado durante toda a pesquisa.

Aos meus pais, Dalila Pinto da Rocha Rabelo e Inésio Pío Rabelo, por me darem a vida! Obrigada por me permitir ir atrás dos meus sonhos, mesmo que por alguns momentos isso me colocasse longe de vocês. Obrigada por todo amor, atenção, zelo e cuidado durante cada instante da minha existência. Obrigada por tudo!

Ao meu companheiro Tiago Gonçalves Ramos, a quem eu amo, admiro e respeito cada dia mais! Obrigada pela paciência, carinho e por todo esforço que você teve durante esse tempo para que eu pudesse alcançar meus objetivos. Obrigada por estar ao meu lado em todos os momentos, sejam eles bons ou ruins, e por fazer dos meus sonhos, os seus também! Como diria Tom Jobim: “...*assim como viver sem ter amor não é viver, não há você sem mim e eu não existo sem você...*” Te amo muito!

A toda a minha família pelo carinho de sempre!

À professora Dr^a. Danusa Dias Soares por me acolher como aluna. Durante este tempo de convívio tive o prazer de conhecer várias de suas vertentes: mãe, esposa, filha, professora, pesquisadora... Tantas funções e tantas qualidades em uma só pessoa! Aprendi a admirá-la não só pelo conhecimento científico e pela ética com que desenvolve a pesquisa, mas aprendi a admirá-la também pela mãe batalhadora e que nunca desiste de seus ideais. Obrigada por entender meus momentos de dificuldade, confiar na minha capacidade e incentivar minha carreira acadêmica!

Ao professor Dr. Nilo Resende Vianna por me mostrar que sempre podemos exigir um pouco mais de nós e que a pesquisa demanda dedicação, trabalho, ética e perseverança.

Ao professor Dr. Samuel Penna Wanner por ser um exemplo de profissional dedicado, atencioso e sempre à disposição para auxiliar nos trabalhos. Sua dedicação à ciência, sem dúvida, inspira a todos os alunos do LAFISE. Obrigada pelos conselhos e por me incentivar a persistir na trajetória acadêmica!

Aos professores Dr. Emerson Silami Garcia, Dr. Luiz Oswaldo Carneiro Rodrigues e Dr. Luciano Sales Prado por se preocuparem com cada aluno do laboratório e por estarem sempre a nossa disposição.

Ao professor Dr. Cândido Celso Coimbra por abrir as portas do Laboratório de Metabolismo e Endocrinologia do ICB e pela grande ajuda na discussão do trabalho.

Ao professor Dr. Raphael Escorsim Szawka por me ensinar a técnica de CLAE e pelas valiosas contribuições ao trabalho. Obrigada por toda a atenção dedicada a este estudo e pelos conselhos valiosos!

À professora Dr^a Leida Maria Botion por permitir a realização das análises séricas em seu laboratório.

A todos os professores da Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional que fizeram e fazem parte da minha formação acadêmica.

A todos os funcionários do LAFISE e da Escola de Educação Física que cuidam do nosso ambiente de trabalho. E a todos os funcionários do CEBIO pelo cuidado com os animais.

À minha grande iniciação científica e amiga Tarcila Figueiredo Almeida. Sua ajuda foi fundamental para realização do trabalho! Obrigada pelas inúmeras vezes que você soube me ouvir e me acalmar. Obrigada pela amizade que foi se construindo ao longo das coletas e pela prontidão para me ajudar.

À minha grande amiga Michele Macedo Moraes, pessoa a quem admiro pela inteligência, competência, simplicidade, humor, dentre tantas outras qualidades! Obrigada pelo convívio não só no ambiente de trabalho, mas também no dia-a-dia. Sua amizade foi uma grande conquista para mim!

Aos meus amigos Juliana Bohnen Guimarães, Luiz Alexandre M. Barcellos e Letícia M. de Souza Cordeiro. Obrigada pelo cuidado e carinho com o trabalho e pela ajuda fundamental durante vários momentos da coleta. Obrigada pela amizade construída e pelos inúmeros momentos divertidos!

Aos meus irmãos de mestrado: Cletiana Gonçalves da Fonseca, Guilherme Passos Ramos e André Maia Lima. Realizar essa caminhada junto com vocês tornou tudo muito mais

importante e especial na minha vida. Espero que nossa amizade cresça cada vez mais e continue ultrapassando os limites da ciência!

À Débora Romualdo Lacerda pelo período no qual acompanhei seu trabalho. Obrigada pela amizade e carinho!

Aos queridos companheiros de orientação, com quem tenho o prazer de conviver: Iula Lamounier Lucca, Renata Lane de Freitas Passos, Reinaldo Teles Paulinelli Júnior e Roberta Maria Miranda Ribeiro. Obrigada por todos os conselhos e pela atenção!

Aos meus amigos, pessoas que admiro e que tive a honra de ter ao meu lado durante esse tempo: Ana Cançado Kunstetter, Ana Cláudia Alves Serafim, Carolina Franco Wilke, Ivana Alice Teixeira Fonseca, Milene Rodrigues Malheiros Lima, Washington Pires, Willian Coutinho Damasceno. Obrigada por todo carinho, atenção e disponibilidade em ajudar em todos os momentos! Obrigada pelos questionamentos e discussões que me ajudaram a crescer!

Aos colegas que me acolheram nos primeiros meses de laboratório: Cristiano Lino Monteiro de Barros, Daniel Barbosa Coelho, Moisés Vieira de Carvalho, Thiago Mendes Teixeira, Lucas de Ávila C. F. Mortimer e Emerson Rodrigues Pereira.

As minhas grandes amigas: Andrezza Duarte, Janini Mano e Symara Gonçalves que souberam ouvir meus desabafos com paciência e carinho, e que me ajudaram em momentos difíceis que não poderiam ter sido superados sem vocês. Vocês não imaginam o quanto as piadas, as danças e os sorrisos foram importantes! Ao meu amigo Juventino Dias, pelos momentos de descontração e por sempre torcer por mim.

À família CEPODE com quem eu convivi durante vários anos da minha graduação. Obrigada por todo ensinamento e carinho que vocês me deram.

A toda minha família “Ramos”, pelo carinho e amor! Vocês são simplesmente maravilhosos!

À minha madrinha, Glória Avelar, que sempre torce por mim.

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi verificar se a capacidade intrínseca para o exercício físico está associada com as concentrações de dopamina (DA), serotonina (5-HT) e seus metabólitos, no estado basal e após o exercício submáximo. Inicialmente, os ratos foram submetidos a três testes de esforço progressivo. Baseado no tempo de exercício máximo (TE_{max}) foi desenvolvido um histograma de distribuição de frequência ($n = 210$ ratos) e os animais foram divididos em: capacidade-baixa (CB) com $TE_{max} < \text{média do TE do histograma menos um desvio-padrão (DP)}$ (CB: $TE_{max} < 24,90$ min), capacidade-alta (CA) com $TE_{max} > \text{média do TE do histograma mais um DP}$ (CA: $TE_{max} > 57,10$ min). Os outros animais foram classificados como capacidade-média (CM) ($TE_{max} > 24,90$ e $< 57,10$ min). O estudo foi constituído por dois protocolos experimentais denominados: estado basal e exercício submáximo (60% da velocidade máxima). No primeiro experimento os animais foram eutanasiados no estado basal. No segundo experimento foram realizadas duas situações: repouso e exercício submáximo, nas quais foram registradas as variáveis termorregulatórias e os animais foram eutanasiados imediatamente após a realização do exercício. Em todos os protocolos, o desempenho foi maior nos animais de CA em relação à CM e CB e menor no grupo CB em relação à CM ($P < 0,01$). A realização do exercício comparado ao estado basal, resultou em aumento da razão 5-HIAA/5-HT no *caudado-putâmen* (CPu), hipocampo (HC) e área pré-óptica (APO) de todos os animais ($P < 0,01$). Já no núcleo *accumbens* (Acc) essa resposta foi evidenciada apenas nos grupos CM e CA ($P < 0,01$). Após o exercício, o aumento do *turnover* serotoninérgico no CPu e Acc foi maior nos animais de CA em relação aos outros grupos experimentais ($P < 0,05$), o que pode ter decorrido da maior razão DOPAC/DA basal no CPu (CM: $0,19 \pm 0,02$; CB: $0,20 \pm 0,01$; CA: $0,29 \pm 0,03$; $P < 0,05$). Foram encontradas correlações positivas entre o TE_{max} e as concentrações de DA e DOPAC basais no Acc (TE_{max} e DA: $r = 0,73$; TE_{max} e DOPAC: $r = 0,86$), apenas nos ratos de CA, o que indica uma maior sensibilidade da via entre a área tegmental ventral e Acc. No grupo de CB, no estado basal, foram observados maiores valores de 5-HIAA e *turnover* serotoninérgico hipocampal, o que pode estar associado à baixa capacidade para o exercício. Os

ratos de CA terminaram o exercício submáximo com maiores valores de temperatura intraperitoneal (CM: $38,17 \pm 0,36$; CB: $37,80 \pm 0,27$; CA: $39,13 \pm 0,26$ °C; $P < 0,05$), o que pode ter sido resultante da maior concentração basal de DA na APO (CM: $7,72 \pm 0,63$; CB: $8,45 \pm 0,66$; CA: $11,50 \pm 1,53$ pg.µg de proteína⁻¹). Durante todo o exercício, a razão calor acumulado/trabalho foi menor no grupo CA, apontando para uma maior eficiência mecânica (EM) nesse grupo, e foi maior no grupo CB, indicando uma menor EM nesses animais. Os dados sugerem que a capacidade para o exercício está associada às variáveis dopaminérgicas e serotoninérgicas, no estado basal e após a realização do exercício físico.

Palavras-chave: Exercício físico. Capacidade intrínseca. Dopamina. Serotonina. Termorregulação.

ABSTRACT

The aim of the present study was to verify whether the intrinsic capacity for physical exercise is associated with the concentrations of serotonin, dopamine and its metabolites in the basal state and after a submaximal exercise. Male Wistar rats were submitted to three incremental exercise tests. Based on the maximal time of exercise ($_{\max}TE$), a frequency histogram was developed and animals were divided in: low capacity (LC) with $_{\max}TE < \text{average}TE$ in the histogram minus one standard deviation (SD) (LC: $_{\max}TE < 24.90$ min), high capacity (HC) with $_{\max}TE > \text{average}TE$ in the histogram plus one standard deviation (SD) (HC: $_{\max}TE > 57.10$ min). The other animals were classified as standard capacity (SC) (SC: $TE > 24.90$ and < 57.10 min). The study consisted of two experimental protocols named: basal state and submaximal exercise (60% in the maximal velocity). The second experiment was constituted by two situations: rest and submaximal exercise, in which the thermoregulatory variables were registered. In all protocols of exercise, the time of exercise was higher in the HC compared to SC and LC, and it was lower in the LC compared to SC ($p < 0.01$). The exercise situation compared to the basal state resulted in the increase of ratio 5-HIAA/5-HT in the caudate-putamen (CPu), hippocampus and preoptic area (POA) of all animals ($p < 0.01$). In the accumbens (Acc), this response was observed only in the groups SC and HC ($p < 0.01$). After the exercise, the increase of serotonin turnover in the CPu and Acc was higher in the HC compared to the other experimental groups ($p < 0.05$). This result might be due to the highest ratio DOPAC/DA in the CPu (SC: 0.19 ± 0.02 ; LC: 0.20 ± 0.01 ; HC: 0.29 ± 0.03 ; $p < 0.05$). Positive correlations were found among TE and the basal concentrations of DA and DOPAC in the Acc, only in HC. Based on this result, it is possible to claim that HC has higher sensitivity of the pathway between the ventral tegmental area and Acc. In the LC group, in the basal state, there were identified higher values of 5-HIAA and serotonin turnover in the hippocampus, which may be associated with a low capacity to do exercise. HC finished the submaximal exercise with higher intraperitoneal temperature than SC and LC, which may be a consequence of the highest basal concentration of DA in the POA (SC: 7.72 ± 0.63 ; LC: 8.45 ± 0.66 ; HC: 11.50 ± 1.53 pg. $\mu\text{g protein}^{-1}$). During all exercise, the ratio

between the accumulated heat and work was lower in the HC group, which indicates a higher mechanical efficiency, and this ratio was higher in LC, which indicates a lower mechanical efficiency in these animals. This data suggests that the capacity to exercise is associated with dopaminergic and serotonergic variables in the basal state and after the physical exercise.

Keywords: Physical exercise. Intrinsic capacity. Dopamine. Serotonin. Thermoregulation.

O charme da ciência é justamente o valor superior das perguntas sobre as respostas: cada novo resultado é melhor quando gera mais perguntas!

Roberto Lent (Coluna Bilhões de Neurônios – Ciência Hoje, 2010)

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1.	Grupos experimentais.....	34
FIGURA 2.	Delineamento experimental 1.....	35
FIGURA 3.	Delineamento experimental 2.....	35
FIGURA 4.	Histograma de frequência de ocorrência.....	36
FIGURA 5.	Referência para microdissecção da APO e HP.....	41
FIGURA 6.	Referência para microdissecção do CPu e Acc.....	41
FIGURA 7.	Referência para microdissecção do HC.....	42
FIGURA 8.	Modelo teórico - Alterações fisiológicas nos animais de CM durante a realização do exercício físico.....	100
FIGURA 9.	Modelo teórico - Alterações fisiológicas nos animais de CA.....	101
FIGURA 10.	Modelo teórico - Alterações fisiológicas nos animais de CB.....	102
GRÁFICO 1.	Desempenho físico dos animais submetidos ao experimento 1....	48
GRÁFICO 2.	Concentração sérica basal de corticosterona.....	49
GRÁFICO 3.	Dados basais das variáveis dopaminérgicas no CPu.....	50
GRÁFICO 4.	Dados basais das variáveis serotoninérgicas no CPu.....	51
GRÁFICO 5.	Relação basal de 5-HT/DA no CPu.....	52
GRÁFICO 6.	Correlações entre as variáveis dopaminérgicas e serotoninérgicas no CPu com o TE_{max}	53
GRÁFICO 7.	Correlação entre as variáveis dopaminérgicas no Acc e o TE_{max}	55
GRÁFICO 8.	Dados basais das variáveis serotoninérgicas no HC.....	57
GRÁFICO 9.	Dados basais das variáveis dopaminérgicas na APO.....	59
GRÁFICO 10.	Desempenho físico no teste de esforço progressivo dos animais submetidos ao experimento 2.....	61
GRÁFICO 11.	Desempenho físico dos animais submetidos ao exercício submáximo.....	62
GRÁFICO 12.	Concentração sérica pós-exercício de corticosterona.....	63
GRAFICO 13.	Dados das variáveis termorregulatórias durante o repouso.....	65
GRÁFICO 14.	Dados das variáveis termorregulatórias durante o exercício submáximo.....	66
GRÁFICO 15.	Correlação entre Ti final e TE no exercício submáximo.....	67
GRÁFICO 16.	Índice de dissipação de calor durante o exercício submáximo.....	68

GRÁFICO 17.	Dados do calor acumulado durante o exercício submáximo.....	70
GRÁFICO 18.	Dados pós-exercício das variáveis serotoninérgicas no CPu.....	72
GRÁFICO 19.	Correlação entre a razão DOPAC/DA no Acc e o TE nos animais de CA.....	73
GRÁFICO 20.	Dados pós-exercício das variáveis serotoninérgicas no Acc.....	74
GRÁFICO 21.	Dados pós-exercício das variáveis dopaminérgicas no HC.....	75
GRÁFICO 22.	Dados pós-exercício das variáveis dopaminérgicas na APO.....	78
GRÁFICO 23.	Dados pós-exercício das variáveis serotoninérgicas na APO.....	79
GRÁFICO 24.	Correlação entre a concentração de DA na APO pós-exercício e a Ti final.....	80
GRÁFICO 25.	Correlação entre o TE e a concentração de DA na APO pós- exercício.....	80
GRÁFICO 26.	Comparações no CPu entre as situações: basal e exercício.....	81
GRÁFICO 27.	Comparações no Acc do turnover serotoninérgico entre as situações: basal e exercício.....	82
GRÁFICO 28.	Comparações na APO do turnover serotoninérgico entre as situações: basal e exercício.....	82
GRÁFICO 29.	Comparações no HP entre as situações: basal e exercício.....	83
GRÁFICO 30.	Comparações do turnover serotoninérgico no HC entre as situações: basal e exercício.....	83

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 -	Massa corporal dos animais no experimento 1.....	37
TABELA 2 -	Massa corporal dos animais no experimento 2.....	37
TABELA 3 -	Concentrações séricas basais de glicose e triacilglicerol.....	49
TABELA 4 -	Dados basais das variáveis dopaminérgicas e serotoninérgicas no núcleo <i>accumbens</i>	54
TABELA 5 -	Dado basal da dopamina no hipocampo.....	56
TABELA 6 -	Dados basais das variáveis dopaminérgicas e serotoninérgicas no hipotálamo.....	58
TABELA 7 -	Dados basais das variáveis serotoninérgicas na área pré-óptica.....	60
TABELA 8 -	Concentrações séricas pós-exercício de glicose e triacilglicerol.....	63
TABELA 9 -	Dados pós-exercício das variáveis dopaminérgicas e serotoninérgicas no <i>caudado-putâmen</i>	71
TABELA 10 -	Dados pós-exercício das variáveis dopaminérgicas e serotoninérgicas no núcleo <i>accumbens</i>	73
TABELA 11 -	Dados pós-exercício das variáveis serotoninérgicas no hipocampo....	76
TABELA 12 -	Dados pós-exercício das variáveis dopaminérgicas e serotoninérgicas no hipotálamo.....	77
TABELA 13 -	Resumo dos principais resultados.....	84

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

° C -	Graus Celsius	Kg -	Quilograma
µL -	Microlitro	LCR -	<i>Low capacity runner</i>
5-HT -	Serotonina (5-hidroxitriptamina)	LVR -	<i>Low voluntary run</i>
5-HIAA -	5-hidroxiindoleacético	MC -	Massa corporal
Acc -	Núcleo <i>accumbens</i>	m -	Metro
AGL -	Ácidos graxos livres	m.min ⁻¹ -	Metros por minuto
ANOVA -	Análise de variância	mA -	Miliamper
APO -	Área pré óptica	médiaTE	Média do tempo de exercício
AR -	Atividade na roda	mg.dL ⁻¹ -	Miligramas por decilitro
ATV -	Área tegmentar ventral	min -	Minuto
B -	Basal	mL -	Mililitro
BDNF -	Brain-derived neurotrophic factor	mV -	Milivolts
BHE -	Barreira hematoencefálica	n -	Unidade experimental
Ca ⁺⁺ -	Cálcio	ng.mL ⁻¹ -	Nanograma por mililitro
CA -	Capacidade alta	r -	Coefficiente de correlação
Cal -	Caloria	r ² -	Coefficiente de determinação
CB -	Capacidade baixa	rpm -	Rotações por minuto
CM -	Capacidade média	RNAm -	RNA mensageiro
CPu -	<i>Caudado-putâmen</i>	SN -	Substância negra
DA -	Dopamina (3,4 dihidroxifeniletilamina)	SNAS -	Sistema nervoso autônomo simpático
DP -	Desvio-padrão	SNC -	Sistema nervoso central
DOPAC -	Ácido diidroxifenilacético	SN _{pc} -	Substância negra <i>pars compacta</i>
eixo HHA	Eixo hipotálamo-hipófise-adrenal	TAG -	Triacilglicerol
h -	Hora	TE -	Tempo de exercício
E -	Exercício	T _{amb} -	Temperatura ambiente
EPM -	Erro padrão da média	TE _{max} -	Tempo de exercício máximo
g -	Gramma	T _{cauda} -	Temperatura da cauda
HC -	Hipocampo	Ti -	Temperatura intraperitoneal
HCR -	<i>High capacity runner</i>	TH -	Tirosina hidroxilase
CLAE -	Cromatografia líquida de alta eficiência	TRP -	Triptofano
HP -	Hipotálamo	V -	Velocidade
HR -	<i>High runner</i>	V _{max} -	Velocidade máxima
HVR -	<i>High voluntary run</i>	VO _{2max} -	Consumo máximo de oxigênio
i.c.v. -	Intracerebroventricular		
IDC -	Índice de dissipação de calor		

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	20
1.1	Monoaminas	23
1.1.1	<i>Monoaminas e termorregulação</i>	23
1.1.2	<i>Monoaminas e hormônios</i>	24
1.1.3	<i>Monoaminas e controle motor</i>	25
1.1.4	<i>Monoaminas e motivação</i>	26
1.2	Capacidade intrínseca para o exercício físico	27
1.3	Objetivos	30
1.4	Hipóteses	31
2	MATERIAIS E MÉTODOS	32
2.1	Cuidados éticos	32
2.2	Amostra	32
2.3	Delineamento experimental	33
2.4	Estratégias para a seleção da amostra de animais em relação à capacidade intrínseca para o exercício	36
2.5	Procedimentos experimentais	38
2.5.1	<i>Protocolo da familiarização ao exercício físico</i>	38
2.5.2	<i>Protocolo do exercício físico de esforço progressivo</i>	38
2.5.3	<i>Procedimento cirúrgico para o implante do sensor de temperatura interna</i>	38
2.5.4	<i>Protocolo do repouso</i>	39
2.5.5	<i>Protocolo do exercício físico com velocidade constante submáxima</i>	39
2.5.6	<i>Eutanásia</i>	40
2.6	Variáveis	42
2.6.1	<i>Variáveis controladas</i>	42
2.6.2	<i>Variáveis dependentes</i>	43
2.6.2.1	<i>Registradas</i>	43
2.6.2.2	<i>Calculadas</i>	43
2.6.2.3	<i>Analisadas</i>	44
2.7	Análise estatística	46
3	RESULTADOS	47
3.1	Experimento 1	47
3.1.1	<i>Desempenho nos animais selecionados</i>	47

3.1.2	<i>Variáveis séricas</i>	49
3.1.3	<i>Variáveis centrais</i>	50
3.1.3.1	<i>Caudado-putâmen</i>	50
3.1.3.2	<i>Núcleo accumbens</i>	54
3.1.3.3	<i>Hipocampo</i>	56
3.1.3.4	<i>Hipotálamo</i>	58
3.1.3.5	<i>Área pré-óptica</i>	59
3.2	Experimento 2	61
3.2.1	<i>Desempenho nos animais selecionados</i>	61
3.2.2	<i>Variáveis séricas</i>	63
3.2.3	<i>Variáveis termorregulatórias</i>	64
3.2.3.1	<i>Temperatura intraperitoneal e temperatura da cauda</i>	64
3.2.3.2	<i>Índice de dissipação de calor</i>	68
3.2.3.3	<i>Calor acumulado</i>	69
3.2.4	<i>Variáveis centrais</i>	71
3.2.4.1	<i>Caudado-putâmen</i>	71
3.2.4.2	<i>Núcleo accumbens</i>	73
3.2.4.3	<i>Hipocampo</i>	75
3.2.4.4	<i>Hipotálamo</i>	77
3.2.4.5	<i>Área pré-óptica</i>	78
3.2.5	<i>Comparações do turnover dopaminérgico e serotoninérgico entre as situações: basal e exercício submáximo</i>	81
4	DISCUSSÃO	86
4.1	Monoaminas e termorregulação	96
4.2	Conclusão	103
	REFERÊNCIAS	104
	APÊNDICE	120
	APÊNDICE A.....	121
	APÊNDICE B.....	123
	APÊNDICE C.....	124
	APÊNDICE D.....	125
	ANEXO	126
	ANEXO A.....	127

1 INTRODUÇÃO

Durante a realização do exercício físico, ocorrem alterações nos diversos sistemas fisiológicos que, através de vias aferentes, enviam informações ao sistema nervoso central (SNC). Este desencadeia ajustes com intuito de manter a homeostasia e permitir a continuação do esforço (ST CLAIR GIBSON e NOAKES, 2004; KAYSER, 2003; RODRIGUES e SILAMI-GARCIA, 1998). Dentre as alterações integradas centralmente estão àquelas observadas no próprio SNC (THOMAS *et al.*, 2012; ROELANDS e MEEUSEN, 2010; FOLEY *et al.*, 2008; MEEUSEN *et al.*, 2006). Estudos indicam que o exercício agudo resulta em modificações nas neurotransmissões: monoaminérgica (BALTHAZAR *et al.*, 2009; SOARES *et al.*, 2007; BAILEY *et al.*, 1993), agiontensinérgica (LEITE *et al.*, 2010), colinérgica (WANNER *et al.*, 2010; RODRIGUES *et al.*, 2009), dentre outras. Já o exercício crônico promove aumento de sinapses neurais, arborização dendrítica e angiogênese central; através da ativação de fatores como o de crescimento neuronal e de crescimento vascular (THOMAS *et al.*, 2012; CHRISTIE *et al.*, 2008). Essas modulações promovidas no SNC influenciam o desempenho físico.

A relação entre a capacidade de executar o exercício e as monoaminas foi estabelecida inicialmente na década de 70. Romanowski e Grabiec (1974) encontraram que o aumento na concentração de serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT) em decorrência do exercício, repercute em diminuição dos processos de oxirredução e hiperpolarização neuronal. Demonstrou-se, a *posteriore*, que o aumento da 5-HT resulta da maior disponibilidade de triptofano (TRP) central (CHAOULOFF *et al.*, 1985), sendo tal modulação específica de algumas áreas cerebrais (CHAOULOFF *et al.*, 1989) e influenciada pelo treinamento (ACWORTH *et al.*, 1986). Assim, baseados na concepção de que a 5-HT diminui a eferência neural e conseqüentemente o recrutamento muscular durante o exercício, foi sugerido, em 1987, um modelo para explicar a fadiga, denominado “Hipótese da Fadiga Central” (NEWSHOLME *et al.*, 1992).

Além da 5-HT, estudos têm demonstrado a participação de outros neurotransmissores na modulação do desempenho físico, dentre os quais, destaca-

se a dopamina (3,4-dihidroxifeniletilamina, DA). A associação entre DA e o exercício remota da década de 70, quando foi observado que o agonista dopaminérgico – metanfetamina – desencadeia aumento no tempo de exercício (TE) (GERALD, 1978). Essa ideia foi reforçada por experimentos que realizaram lesão na via estriatal e observaram redução no desempenho (HEYES *et al.*, 1985). Além disso, constatou-se que o exercício gera aumentos gradativos na concentração de DA e seus metabólitos em áreas cerebrais (HEYES *et al.*, 1988; CHAOULOFF *et al.*, 1987; FREED e YAMAMOTO, 1985). Prosseguindo nessa linha de pesquisa, indícios da inibição de DA sob 5-HT, durante o exercício, foram demonstrados a partir dos resultados de aumento e diminuição da atividade serotoninérgica com o uso de antagonista e agonista dopaminérgico, respectivamente (CHAOULOFF *et al.*, 1987). Em 1993, Bailey e colaboradores evidenciaram a relação inibitória recíproca entre as monoaminas (BAILEY *et al.*, 1993). Assim, adveio a reformulação da “Hipótese da Fadiga Central”, fundamentada na relação 5-HT/DA (DAVIS e BAILEY, 1997).

No decorrer da execução do exercício é possível visualizar uma dinâmica na atividade de ambos os sistemas, com aumentos gradativos na atividade serotoninérgica e dopaminérgica. Entretanto, com a aproximação do momento da interrupção da tarefa, nota-se que a atividade dopaminérgica retorna para os valores basais, em detrimento da serotoninérgica, que se mantém elevada (BAILEY *et al.*, 1993; BALTHAZAR *et al.*, 2009). Tal dinâmica neural é tida como um dos componentes que contribuem para interrupção do esforço (DAVIS e BAILEY, 1997; BAILEY *et al.*, 1993).

Somando as evidências que demonstram a relação entre os neurotransmissores e o exercício, resultados mostram que o exercício crônico desencadeia plasticidade nas vias neurais monoaminérgicas (GREENWOOD *et al.*, 2011; PETZINGER *et al.*, 2007; WERME *et al.*, 2002). O treinamento modifica a sensibilidade e a síntese dos receptores pós-sinápticos serotoninérgicos (CHENNAOUI *et al.*, 2001; DWYER e BROWNING, 2000). Já no sistema dopaminérgico, ocorre aumento temporal na liberação de DA após estímulo farmacológico (MARQUES *et al.*, 2008). O acesso à roda, por seis semanas, resulta em aumento do autorreceptor 5-HT_{1A} (GREENWOOD *et al.*, 2005), aumento do RNAm de tirosina hidroxilase (TH) na substância negra *pars compacta* (SN_{pc}) e aumento do RNAm do receptor D₂ no

caudado-putâmen (CPu) (FOLEY e FLESHNER, 2008). Essas modulações tendem a aumentar a atividade do sistema dopaminérgico, em detrimento de uma menor ativação do sistema serotoninérgico. Contudo, em resposta a um protocolo de treinamento exaustivo, com intuito de mimetizar a síndrome do excesso de treinamento, há aumento basal da concentração de 5-HT hipotalâmica com concomitante queda no desempenho (CAPERUTO *et al.*, 2009).

Como é possível perceber, através dos resultados expostos anteriormente, o exercício físico modula os sistemas monoaminérgicos, assim como é influenciado por esses neurotransmissores. Nota-se, através da interpretação dos dados, que a ativação do sistema dopaminérgico e serotoninérgico está associada, respectivamente, ao aumento e diminuição na capacidade de realizar o exercício.

A 5-HT é o sistema de neurotransmissor mais difuso existente nos vertebrados (JACOBS e FORNAL, 1995). Os neurônios serotoninérgicos estão localizados em estruturas denominadas núcleos da *ráphe*. Esses núcleos se subdividem em *ráphe* caudal, com projeções para a coluna vertebral, e *ráphe* rostral e medial, que emitem projeções para diversas regiões cerebrais, como: SN (substância negra), tálamo, CPu, núcleo *accumbens* (Acc), hipocampo (HC), hipotálamo (HP) (ROELANDS e MEEUSEN, 2010; MEEUSEN e MEIRLEIR, 1995). O aumento da atividade serotoninérgica durante o exercício, que é um dos fatores que contribui para a interrupção do esforço (CORDEIRO *et al.*, 2012; SOARES *et al.*, 2007; BAILEY *et al.*, 1993), resulta do aumento da concentração de TRP sérico livre, o precursor da 5-HT (MEEUSEN *et al.*, 2006; DAVIS *et al.*, 2000; MEEUSEN e MEIRLEIR, 1995; DAVIS e BAILEY, 1997). Estudo do nosso laboratório demonstrou que a injeção de TRP intracerebroventricular (*i.c.v.*) diminui o TE, o que ocorre em função da sua conversão em 5-HT (SOARES *et al.*, 2007). Esse argumento foi comprovado em trabalho posterior que evidenciou ausência de efeito ergolítico, após a injeção de TRP precedida pela administração de um fármaco que bloqueia a conversão de TRP em 5-HT (CORDEIRO *et al.*, 2012).

O aumento da atividade dopaminérgica central, durante o exercício, é decorrente da maior concentração de Ca^{++} que potencializa a atividade da TH, enzima limitante da síntese de DA (BEN-JONATHAN e HNASKO, 2001; AKIYAMA e SUTOO, 1999;

MEEUSEN e MEIRLEIR, 1995). As principais eferências neuronais dopaminérgicas originam-se na SN_{pc} e área tegmentar ventral (ATV) com projeções para estruturas estriatais, corticais, límbicas e hipotalâmicas. Deste modo são formadas as vias nigroestriatal, mesocorticolímbica, e nigrohipotalâmica (KOOB *et al.*, 1998).

Vários estudos vêm sendo realizados com o intuito de aprofundar o conhecimento acerca da relação 5-HT/DA durante o exercício. Evidências têm sido elucidadas em relação à participação da DA em circuitos associados ao controle termorregulatório, hormonal, motor e mecanismos de motivação (FOLEY *et al.*, 2008; MEEUSEN *et al.*, 2006; BEN-JONATHAN e HNASKO, 2001). Já a 5-HT tem sido relacionada com a termorregulação, controle motor, letargia, regulação do ciclo claro-escuro, dor e apetite (BERGE *et al.*, 2009; MEEUSEN *et al.*, 2006). Considerando a influencia desses fatores no desempenho, e que eles são regulados pelos sistemas monoaminérgicos, a hipótese do presente estudo foi que a variabilidade intrínseca para o exercício pode estar associada a diferenças nesses sistemas de neurotransmissores.

1.1 Monoaminas

1.1.1 Monoaminas e termorregulação

A área pré-óptica (APO) é um dos principais *locus* associado ao controle autonômico da temperatura corporal (ROMANOVSKY *et al.*, 2007; HASEGAWA *et al.*, 2005a; ISHIWATA *et al.*, 2002). Durante a realização do exercício, ocorrem alterações nas concentrações de DA e 5-HT nessa estrutura cerebral, o que contribui para os ajustes termorregulatórios (BALTHAZAR *et al.*, 2009; SOARES *et al.*, 2007, RODRIGUES *et al.*, 2003; HASEGAWA *et al.*, 2000). Em relação a 5-HT, na década de 60, demonstrou-se que a sua administração no HP de gatos gera resposta hipertérmica (FELDBERG e MYERS, 1964; 1965). Já na década de 70, observou-se que o estímulo farmacológico dopaminérgico potencializa os mecanismos de perda de calor (COX *et al.*, 1978). Em trabalhos posteriores, foi constatado que o aumento

de DA na APO desencadeia aumento no TE por permitir a manutenção do exercício, mesmo com altos valores de temperatura corporal (BALTHAZAR *et al.*, 2009; HASEGAWA *et al.*, 2008; ROELANDS *et al.*, 2008b; WATSON *et al.*, 2005), sem alterações na percepção de esforço ou conforto térmico (ROELANDS *et al.*, 2008b; WATSON *et al.*, 2005). Nesses trabalhos é exposto o argumento de que o aumento de DA na APO inibe os sinais inibitórios para interrupção do esforço que são decorrentes da sobrecarga térmica. Além disso, resultados demonstram que a DA minimiza a redução da eficiência mecânica (BALTHAZAR *et al.*, 2009) e aumenta a dissipação de calor (GISOLFI *et al.*, 1980). Em relação à influência serotoninérgica na termorregulação, em um conjunto de trabalhos desenvolvidos pelo nosso laboratório (SOARES *et al.*, 2003b; 2004; 2007) demonstrou-se que o aumento de 5-HT na APO correlaciona negativamente com o TE (SOARES *et al.*, 2007), o que pode ser devido ao aumento na taxa metabólica e diminuição na eficiência mecânica (SOARES *et al.*, 2003b), resultando em maior taxa de acúmulo de calor (SOARES *et al.*, 2004). Já a inibição do sistema serotoninérgico atenua o aumento da temperatura corporal e diminui o limiar para vasodilatação da cauda (RODRIGUES *et al.*, 2009; CORDEIRO *et al.*, 2012). Portanto, é possível concluir que, os sistemas dopaminérgico e serotoninérgico possuem efeitos antagônicos sob os ajustes termorregulatórios.

1.1.2 *Monoaminas e hormônios*

Estudos que manipularam a ativação monoaminérgica também demonstram sua participação na liberação hormonal durante o exercício. A atividade dopaminérgica tem sido associada à inibição do sistema nervoso autônomo simpático (SNAS) e a inibição da liberação de hormônios hipofisários, exceto hormônio do crescimento (AKIYAMA e SUTOO, 1999). Já a 5-HT desencadeia liberação de hormônios da hipófise anterior (YATHAM *et al.*, 1993) e ativa o SNAS (CHAOULOFF *et al.*, 1993). Porém, durante o exercício, a administração de agonistas dopaminérgicos (PIACENTINI *et al.*, 2004) e serotoninérgicos (ROELANDS *et al.*, 2009a) resultam em maiores concentrações de corticosterona. Além disso, tem-se estabelecido uma possível relação inibitória do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (eixo HPA) sobre a síntese serotoninérgica: a corticosterona ativa a enzima TRP pirolase, presente no fígado, que metaboliza o TRP sérico (BADAWY, 1977; CHAOULOFF, 1997).

Entretanto, no HC, há indícios de que a corticosterona aumenta a atividade serotoninérgica, já que, animais com hipoatividade do eixo HPA apresentam diminuição da concentração de triptofano hidroxilase e do receptor 5HT-1A hipocampal (CHAOULOFF *et al.*, 1995). A corticosterona também aumenta a liberação de DA no HC (MORA *et al.*, 2012). Nota-se, portanto, que a relação entre as monoaminas e a liberação hormonal é complexa. Em relação à modulação do eixo HPA, essa interação depende da natureza, intensidade e preditabilidade do agente estressor (MORA *et al.*, 2012; SOARES *et al.*, 2003a; CHAOULOFF *et al.*, 2000).

1.1.3 Monoaminas e controle motor

Os sistemas serotoninérgico e dopaminérgico estão envolvidos no controle do movimento, o que pode influenciar o desempenho físico. A DA, através das projeções da SNpc para o corpo estriado, aumenta e diminui, respectivamente, a atividade da via direta e indireta dos gânglios da base. Como resultado, ocorre a regulação fina do ato motor (FOLEY *et al.*, 2008). As estruturas estriatais também estão associadas à motivação, o que, de acordo com os autores, gera o efeito hedônico do exercício (KRAVITZ e KREITZER, 2012). O exercício agudo (BAILEY *et al.*, 1993) e o crônico (PETZINGER *et al.*, 2007), desencadeiam aumento estriatal de DA, o qual está associado com aumento de fatores de transcrição (WERME *et al.*, 2002). Além disso, o exercício crônico gera neuroproteção e neuroplasticidade no corpo estriado de animais submetidos às lesões farmacológicas nessa região cerebral desencadeadas por 6-hidroxidopamina e 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (GERECKE *et al.*, 2010; TAJIRI *et al.*, 2010; GORTON *et al.*, 2010; FISHER *et al.*, 2004; PETZINGER *et al.*, 2007). O déficit motor, resultante do dano neuronal desencadeado pela lesão, é revertido a partir da restauração das concentrações de DA, ácido diidroxifenilacético (DOPAC) e ácido homovalínico no CPu e Acc (GORTON *et al.*, 2010). Há, ainda, aumento da taxa de liberação e decaimento de DA (PETZINGER *et al.*, 2007). Já a 5-HT modula o comportamento motor através de projeções para o HC. Entretanto, em relação a sua função, os resultados ainda são inconclusivos. Trabalhos mostram que a 5-HT, especificamente nessa área cerebral pode gerar tanto aumento (TAKAHASHI *et al.*, 2000;

CHAOULOFF *et al.*, 1995) quanto diminuição da atividade locomotora (VANDERWOLF, 1989; BLAND e VANDERWOLF, 1972).

1.1.4 Monoaminas e motivação

A participação em vias de motivação e reforço positivo também é um dos possíveis mecanismos pelos quais as monoaminas podem modular o desempenho. A atividade dopaminérgica no Acc, que integra a via mesocorticolímbica, está associada com a manutenção de comportamentos essenciais para a sobrevivência das espécies, tais como: alimentação, reprodução sexual e realização do exercício físico (KNAB e LIGHTFOOT, 2010; KOOB *et al.*, 1998; SZCZYPKA *et al.*, 2001; FELTENSTEIN e SEE, 2008; PRATT *et al.*, 2009). Esses comportamentos, por serem necessidades naturais, se tornaram ao longo da evolução, comportamentos motivados. Dados que corroboram essa argumentação mostram que a inibição dopaminérgica no Acc gera hipoatividade e a manifestação do estado anedônico (KIYATKIN *et al.*, 2008; SZCZYPKA *et al.*, 2001). De acordo com o conceito de que o exercício é um comportamento motivado, outros autores constataram que animais de laboratório, criados em ambientes restritos, buscam ter acesso ao local no qual há a roda (LETT *et al.*, 2000; BELKE *et al.*, 1997), o que pode ser interpretado como uma tentativa de restaurar seu equilíbrio fisiológico observado no *habitat* natural. Complementado essas evidências, o exercício crônico gera plasticidade no Acc, o que tendem a aumentar a atividade da via (GREENWOOD *et al.*, 2011; WERME *et al.*, 2002) e concomitantemente é observada diminuição na busca por drogas de abuso, cujo mecanismo de dependência decorre da exarcebação da liberação de DA nesse núcleo (FONTES-RIBEIRO *et al.*, 2011; CHEN *et al.*, 2008). Concordando com o exposto anteriormente é relevante especular que a ativação da via entre a ATV e o Acc está diretamente relacionada à motivação para a realização do exercício.

Conforme o Modelo dos Limites Integrados – proposto por nosso laboratório em 1998 (RODRIGUES e SILAMI-GARCIA, 1998) – e que vêm sendo revisado pelos autores, a motivação resulta das alterações internas associadas às informações externas que, ao serem integradas centralmente, desencadeiam um cálculo que

compara os custos e benefícios do exercício físico. De acordo com a resultante gerada, ocorre a manutenção, diminuição ou interrupção do esforço, com o objetivo de manter a homeostasia do organismo. Portanto, a fadiga tem sido aceita como um mecanismo protetor da integridade do organismo (RODRIGUES e SILAMI-GARCIA, 1998). Entretanto, no ambiente natural, em uma situação de fuga do predador, no qual o principal fator modulador desse cálculo é a possibilidade de se manter vivo, o benefício inerente à situação imposta se sobrepõe a qualquer risco de ruptura do equilíbrio fisiológico. Nessas condições, ocorre inibição da fadiga e a manutenção do exercício até a sua interrupção involuntária, causado pelo rompimento da homeostasia. Esses processos, ao longo da evolução, foram determinantes para a seleção natural dos animais em função do seu nível de atividade e podem estar vinculados ao sistema dopaminérgico.

1.2 Capacidade intrínseca para o exercício físico

Os mecanismos descritos acima influenciam a capacidade de realizar o exercício, sendo modulados por fatores extrínsecos, como por exemplo, o treinamento, e por fatores genéticos. Tem-se demonstrado que a capacidade de realizar o exercício envolve traços quantitativos que se distribuem em um contínuo de variação genética (BRITTON e KOCH, 2001). Para se estudar essa influência no desempenho foram desenvolvidas castas de animais que possuem divergências na capacidade intrínseca para o exercício. Koch e Britton, em 1996, iniciaram a criação das castas de alta e baixa capacidade para a corrida (representado por HCR – *high capacity runner*, e LCR – *low capacity runner*, sucessivamente), a partir de um cruzamento artificial divergente (BRITTON e KOCH, 2001). O protocolo de seleção aplicado nesses ratos tem isolado genes associados a uma gama ampla de funções fisiológicas (APÊNDICE A). Em relação ao desempenho, na 3ª geração, os animais HCR e LCR apresentaram uma diferença de 114% (HUSSAIN *et al.*, 2001), já na 23ª geração foi observada uma discrepância de 449% (WIKGREN *et al.*, 2012).

Os animais manipulados geneticamente também têm sido utilizados para analisar a relação entre os sistemas dopaminérgico e serotoninérgico e o desempenho. Os resultados mostram que, em camundongos que percorrem distâncias elevadas na

roda de atividade (HR – *high runner*) (SWALLOW *et al.*, 1998) há aumento basal na concentração de DA e DOPAC no Acc e CPu (MATHES *et al.*, 2010) e menor sensibilidade a fármacos que modulam a atividade dopaminérgica (RHODES e GARLAND, 2003). Além disso, em animais HCR observa-se aumento de RNAm do autorreceptor serotoninérgico e do receptor dopaminérgico no mesencéfalo (FOLEY *et al.*, 2006). Em ratos selecionados para altos e baixos níveis de atividade na roda, HVR (*high voluntary run*) e LVR (*low voluntary run*), consecutivamente, nota-se maior sensibilidade do receptor D1 nos animais HVR (ROBERTS *et al.*, 2012). Portanto, é plausível especular que as alterações observadas nos sistemas dopaminérgicos e serotoninérgicos são fatores que contribuem para a capacidade inata de se exercitar. Entretanto, os resultados ainda não são conclusivos, sendo investigados apenas em animais manipulados geneticamente. Contudo, existem evidências experimentais mostrando diferenças na capacidade intrínseca para o exercício em animais não manipulados geneticamente (PRIMOLA-GOMES *et al.*, 2009; LERMAN *et al.*, 2002).

Na natureza, os animais apresentam diferentes níveis de locomoção, sendo esse um comportamento vital para a sobrevivência e manutenção da espécie, pois permite a obtenção de alimento, fuga de predadores e a migração em função de um ambiente desfavorável. Assim, o comportamento motor influencia os hábitos de vida da espécie. Como exemplo dessa relação, estudos prévios da área de seleção natural no desempenho ecológico, demonstram que a velocidade de corrida está associada com a escolha de um padrão ativo diurno (período no qual há maior presença de predadores) ou noturno (período no qual a menor presença de predadores) (DAMME e VANHOYDONCK, 2001). Observa-se, também, correlação entre a distância diária percorrida no *habitat* natural, denominado desempenho ecológico, e a capacidade de corrida na esteira (GARLAND, 1999). Conclui-se, portanto, que a capacidade de realizar o exercício é um dos fatores envolvidos no processo de seleção natural, e que, os resultados de testes laboratoriais reproduzem, em parte, o comportamento na natureza. A diferença inata para o exercício pode ser decorrente de alterações observadas nos diversos sistemas fisiológicos (BRITTON e KOCH, 2001; 2005), o que pode gerar modificações nas modulações que serão integradas centralmente. Além disso, também pode estar presente mudança nos aspectos motivacionais, o que é corroborado pelas evidências centrais descritas acima em

animais manipulados geneticamente (KNAB e LIGHTFOOT, 2010; RHODES *et al.*, 2005). Todas essas variações resultariam em modificações nesta rede complexa de integrações de fatores fisiológicos e conseqüentemente isso influenciaria no processo de fadiga.

Resultados prévios mostram que a variação no TE em animais de uma mesma linhagem pode ser parcialmente explicada pelas diferenças no sistema cardiovascular (PRIMOLA-GOMES *et al.*, 2009). Através da análise e interpretação dos diversos estudos expostos anteriormente, é possível indagar se há diferenças em outros sistemas fisiológicos, como os sistemas de neurotransmissão dopaminérgica e serotoninérgica, em animais com diferenças inatas no desempenho. Assim, este estudo tem como objetivo investigar a associação entre a capacidade intrínseca para o exercício físico e as monoaminas cerebrais 5-HT e DA, com o intuito de contribuir para o entendimento dos mecanismos vinculados à capacidade inata de se exercitar.

1.3 Objetivos

Experimento 1: Verificar se a capacidade intrínseca para o exercício está associada com as concentrações basais centrais de dopamina, serotonina e seus metabólitos DOPAC e 5-HIAA, respectivamente.

.

Experimento 2: Verificar, em animais com diferentes capacidades intrínsecas para o exercício, as concentrações centrais de dopamina, serotonina e seus metabólitos DOPAC e 5-HIAA, respectivamente, após a realização de um exercício físico.

Objetivos específicos:

Verificar, em animais com diferentes capacidades intrínsecas para o exercício:

- as respostas termorregulatórias durante o repouso e o exercício físico.
- a concentração de corticosterona e substratos energéticos (glicose e triacilglicerol), em situação basal e após o exercício físico.

1.4 Hipóteses

Experimento 1:

H_0 : A capacidade intrínseca para o exercício não está associada com as concentrações basais centrais de dopamina, serotonina e seus metabólitos.

H_1 : A capacidade intrínseca para o exercício está associada com as concentrações basais centrais de dopamina, serotonina e seus metabólitos.

Experimento 2:

H_0 : Em animais com diferentes capacidades intrínsecas para o exercício, as concentrações centrais de dopamina, serotonina e seus metabólitos não diferem, entre os grupos, após a realização de um exercício físico.

H_1 : Em animais com diferentes predisposições para o exercício, as concentrações centrais de dopamina, serotonina e seus metabólitos diferem, entre os grupos, após a realização de um exercício físico.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Cuidados éticos

Os procedimentos utilizados obedeceram aos Princípios Éticos da Experimentação Animal. O estudo foi submetido à aprovação do Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Minas Gerais (CETEA/UFMG, protocolo 061/2011) e do Colegiado de Pós-Graduação da Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional da UFMG (EEFFTO/UFMG).

2.2 Amostra

Foram utilizados ratos (*Mus norvegicus albinis*), da linhagem *Wistar*, provenientes do Centro de Bioterismo do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG. Durante os experimentos, os animais tiveram livre acesso à ração granulada (Labina) e água. Os animais foram alojados em gaiolas coletivas (quatro animais por caixa) no período pré-cirúrgico, e foram realocados em gaiolas individuais após a cirurgia, sob um ciclo claro-escuro de 14/10 h, sendo as luzes acessas às 5 h e apagadas às 19 h. A temperatura ambiente foi controlada em 24 ± 2 °C.

Cálculo Amostral

Para a realização do cálculo amostral (SAMPAIO, 2007) foi considerada a variável principal – tempo de exercício (TE) – uma variável instável [média (\bar{X}) = 31,60 min; desvio-padrão (s) = 14,97 min; coeficiente de variação (CV) = 47% (PRÍMOLA-GOMES *et al.*, 2009)]. Para esta variável foi utilizada uma amplitude do intervalo de confiança da média (IC) de 35%. Apesar de este intervalo ser superior ao proposto por Sampaio (2007), que é de 30% para variáveis biológicas, ele foi utilizado para garantir a viabilidade experimental.

Cálculo para cada grupo experimental:

<p>Fórmula: $\bar{X} \pm t_{\alpha,gl} * s / \sqrt{n}$, para: $t = 2,0$: IC = 35% de 31,60 min = 11,06 min $11,06 = 2 * 14,97 / \sqrt{n}$ $n = 7,3$</p>
--

Portanto, foram utilizadas oito unidades experimentais em cada grupo. O mesmo número de animais, por grupo, foi adotado em estudos anteriores do nosso laboratório, tendo o TE como a variável principal (PRÍMOLA-GOMES *et al.*, 2009; SOARES *et al.*, 2007).

2.3 Delineamento experimental

O delineamento estatístico adotado foi o inteiramente ao acaso, com um total de 47 graus de liberdade (SAMPAIO, 2007). Na primeira e segunda semana do protocolo experimental, os animais foram familiarizados ao exercício na esteira rolante e submetidos a três testes de esforço progressivo, respectivamente. Entre os testes, foi dado um intervalo de 24 horas para a recuperação física dos animais (PRIMOLA-GOMES *et al.*, 2009). A partir dos resultados obtidos, os animais foram classificados como: capacidade-média (CM) capacidade-baixa (CB), e capacidade-alta (CA). Subsequentemente, eles foram divididos em dois experimentos: basal ou exercício (com a situação repouso e exercício submáximo) (FIG. 1).

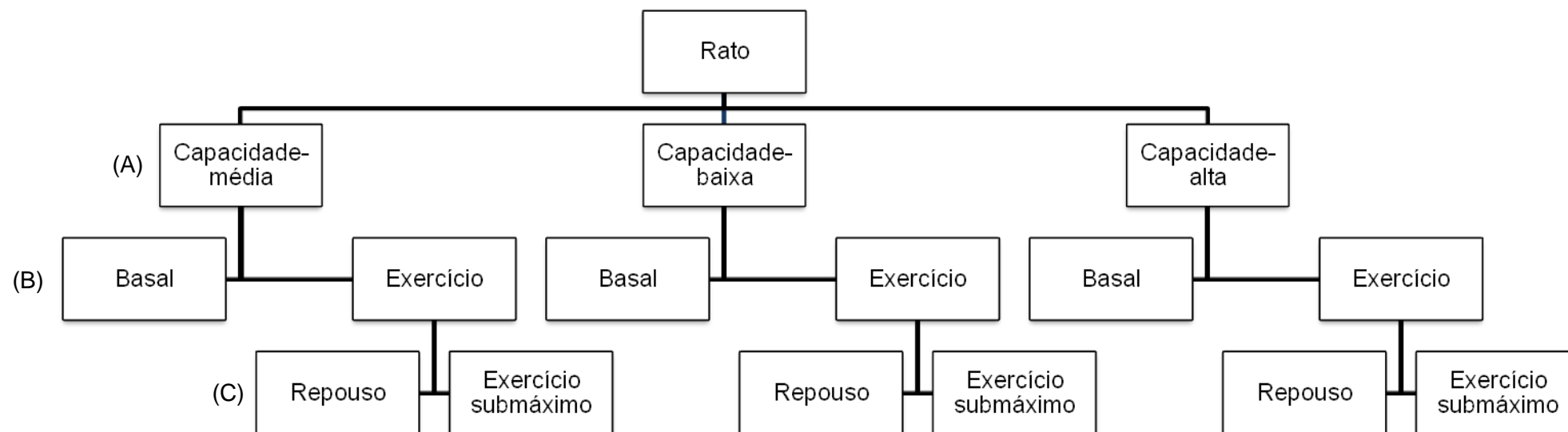


FIGURA 1. Grupos experimentais

Legenda: (A) grupos; (B) experimentos; (C) situações.

Na semana três, os animais do 1° experimento (basal) foram submetidos ao procedimento cirúrgico *sham* do implante de sensor de temperatura na cavidade abdominal. A cirurgia *sham* consistiu de uma cirurgia fictícia na qual o animal foi exposto ao mesmo procedimento da cirurgia principal, entretanto, não houve o implante do sensor. Após a recuperação do peso pré-cirúrgico, eles foram eutanasiados (FIG. 2).

Já no experimento dois (exercício submáximo), na semana três, foi realizado o procedimento cirúrgico para o implante do sensor de temperatura na cavidade intraperitoneal. Após a recuperação, os ratos foram submetidos ao protocolo de repouso. Em dias posteriores (2 a 4 dias), os animais realizaram um exercício a 60% da velocidade máxima (V_{max}), alcançada nos testes de esforço progressivo, sendo eutanasiados imediatamente após a interrupção do esforço. (FIG. 3)

Em todas as situações experimentais a temperatura ambiente foi controlada com a utilização de um ar-condicionado e registrada através de um termopar acoplado a um teletermômetro, mantidos no ambiente.

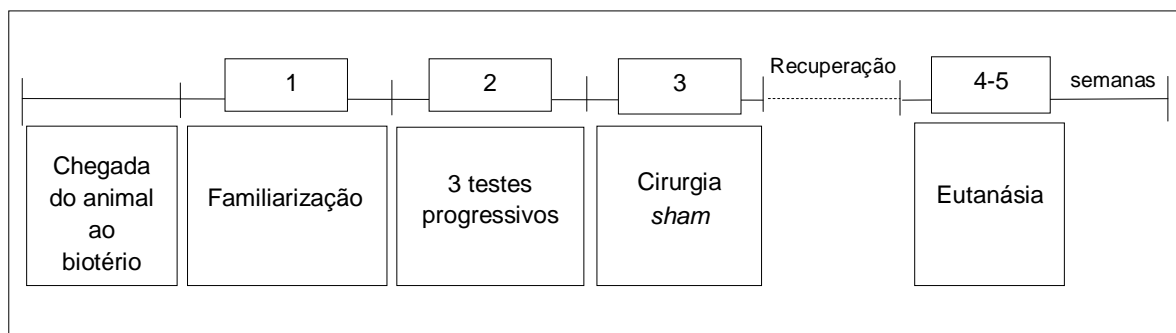


FIGURA 2. Delineamento experimental 1

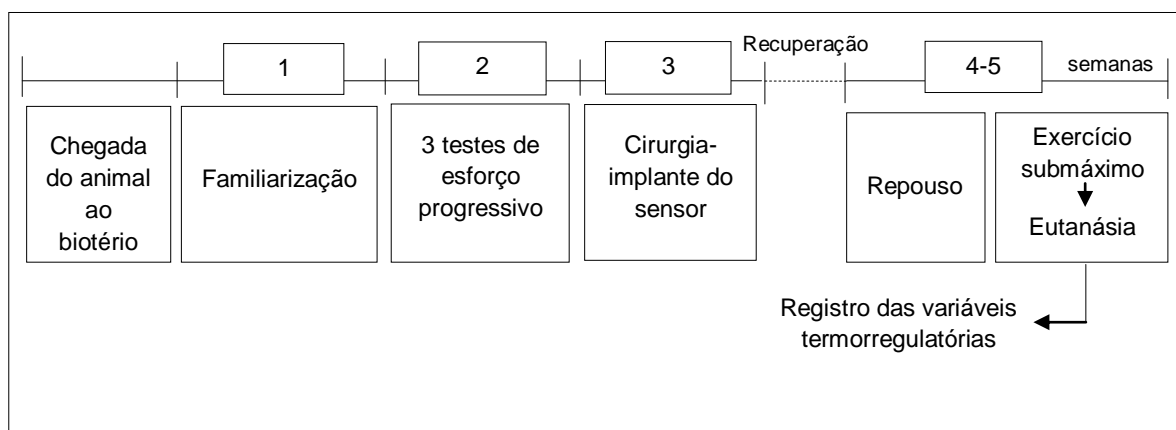


FIGURA 3. Delineamento experimental 2

2.4 Estratégia para a seleção dos animais em relação à capacidade intrínseca para o exercício físico

Inicialmente, foi utilizado como referência o histograma desenvolvido por Prímola-Gomes e colaboradores (2009). No decorrer da realização dos experimentos, os resultados obtidos nos três testes de esforço progressivo foram utilizados para a construção de um novo histograma. O critério adotado, para classificação dos animais em relação à capacidade intrínseca para o exercício, foi o melhor TE obtido entre os três testes, comparado à média do TE do histograma (médiaTE) (PRIMOLA-GOMES *et al.*, 2009). Para a construção do histograma e seleção da amostra foram utilizados 210 animais, sendo obtido: média do TE (\bar{X})= 41,01 min e o DP (s) = 16,10 min (FIG. 4).

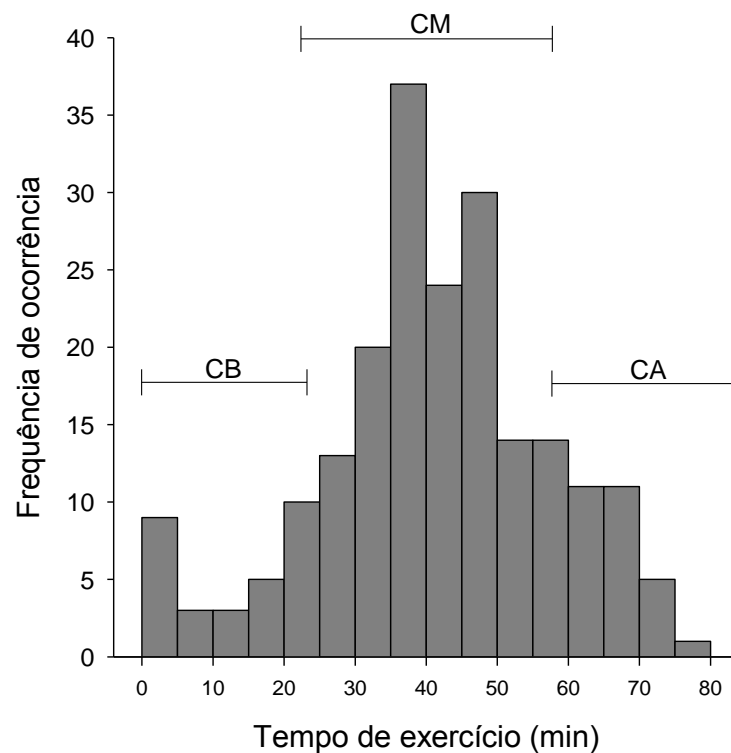


FIGURA 4. Histograma de frequência de ocorrência

A partir dos resultados obtidos, os animais foram divididos nos grupos CM, CB e CA, como proposto por Prímola-Gomes e colaboradores (2009):

- CM: animais que obtiveram um TE maior que a \bar{X} menos um s e menor que \bar{X} mais um s (TE entre 24,90 e 57,10 min);

- CB: animais que obtiveram um TE inferior a \bar{X} menos um s (TE < 24,90 min);
- CA: animais que obtiveram um TE superior a \bar{X} mais um s (TE > 57,10 min).

Com base nesta divisão, 68,10% dos animais foram classificados como CM, 14,28% como CB e 17,62% como CA.

Após a classificação, oito animais de cada grupo foram utilizados para cada experimento e não foram observadas diferenças na massa corporal (MC), entre os grupos, em nenhuma das situações experimentais (TAB. 1 e TAB. 2).

TABELA 1. Massa corporal dos animais no experimento 1

	CM	CB	CA	P
MC no 1° teste de esforço progressivo	276,3 ± 2,4 g	272,2 ± 5,3 g	272,7 ± 6,2 g	0,28
MC no teste de esforço progressivo do TE _{max}	287,1 ± 4,3 g	273,3 ± 5,4 g	280,6 ± 7,6 g	0,81

n= 8 para todos os grupos. Os dados estão expressos com média ± EPM.

TABELA 2. Massa corporal dos animais no experimento 2

	CM	CB	CA	P
MC no 1° teste de esforço progressivo	275,5 ± 7,1 g	293,1 ± 5,4 g	288,2 ± 6,0 g	0,14
MC no teste de esforço progressivo do TE _{Max}	301,9 ± 7,9 g	283,2 ± 6,4 g	301,2 ± 5,3 g	0,10
MC no exercício submáximo	300,6 ± 7,09 g	320,1 ± 10,4 g	306,9 ± 4,7 g	0,22

n= 8 para todos os grupos. Os dados estão expressos com média ± EPM.

2.5 Procedimentos experimentais

2.5.1 Protocolo da familiarização ao exercício físico

Os animais foram familiarizados ao exercício em esteira rolante para animais de pequeno porte (Columbus Instruments, OH, USA) durante cinco dias consecutivos, permanecendo cinco minutos em repouso na esteira seguidos de cinco minutos de exercício, com aumentos gradativos na velocidade: 10, 10, 11, 13 e 15 m.min⁻¹ (PRIMOLA-GOMES *et al.*, 2009). Durante a realização do protocolo de familiarização, a esteira foi mantida com 5° de inclinação e foi aplicado um estímulo elétrico de 0,5 mA. O objetivo da familiarização foi ensinar aos animais em qual direção correr e eliminar aqueles que não conseguiam executar a corrida (KOCH e BRITTON, 2001).

2.5.2 Protocolo do exercício físico de esforço progressivo

Para os testes de esforço progressivo, foi adotada a velocidade inicial de 10 m.min⁻¹ com aumentos progressivos de 1 m.min⁻¹ a cada três minutos e a inclinação da esteira foi sempre mantida em 5° (PRÍMOLA-GOMES *et al.*, 2009). A corrente elétrica (0,5 mA) foi aplicada na região posterior da esteira com o objetivo de estimular os animais a correrem. O critério adotado para a interrupção do exercício foi a permanência do animal sobre a grade de estímulo elétrico por dez segundos (SOARES *et al.*, 2007; RODRIGUES *et al.*, 2009; SOARES *et al.*, 2004). Os experimentos foram realizados entre às 7 e 14 h. A massa corporal dos animais foi registrada previamente a realização de cada teste.

2.5.3 Procedimento cirúrgico para o implante do sensor de temperatura interna

Os animais foram anestesiados com uma mistura de cloridrato de cetamina 10% (Syntec, Cotia, SP, Brasil) (anestésico) e cloridrato de xilasina 2% (Syntec, Cotia, SP, Brasil) (analgésico, anestésico). Foi administrado intraperitonealmente 90 mg.kg⁻¹ mL cetamina e 10,5 mg.kg⁻¹ de xilazina. Na sequência, foram dados aos animais,

48000 UI de pentabiótico (Fort Dodge, Campinas, SP, Brasil) intramuscular e 2 mg.kg⁻¹ de analgésico (Banamine, Intervet, Cruzeiro, SP, Brasil) subcutâneo. Após serem colocados em decúbito ventral, foram efetuadas a assepsia e a depilação da região abdominal e subaxilar. Logo após a tricotomia, na região abdominal foi realizada uma incisão no tecido subcutâneo e no músculo reto abdominal para possibilitar a colocação do sensor. O mesmo foi fixado no músculo reto abdominal. Posteriormente, foi executado bilateralmente um corte na região subaxilar. As guias do sensor, após serem atravessadas subcutaneamente, com a utilização de um trocâter até a região subaxilar, foram fixadas ao músculo peitoral. Logo após o procedimento, as regiões abdominal e subaxilar foram suturadas. Ressalta-se que, inicialmente, o sensor G2-HRE-Mitter (Mini-Mitter, OR, EUA) foi utilizado com o intuito de registrar tanto a temperatura interna, quanto a frequência cardíaca. Entretanto, no decorrer da realização dos experimentos, em função de problemas técnicos, não foi possível a aquisição dos dados de frequência cardíaca.

2.5.4 Protocolo do repouso

Os animais foram mantidos em suas caixas dispostas sobre a placa de registro para a obtenção dos valores da temperatura intraperitoneal. Um termopar, conectado a um teletermômetro, foi fixado à superfície lateral da base da cauda para aferição da temperatura da cauda.

As variáveis termorregulatórias foram registradas em intervalos de um minuto, durante 60 minutos, a partir do momento em que ficaram estáveis. Os experimentos foram realizados entre às 7 e 12 h.

2.5.5 Protocolo do exercício físico com velocidade constante submáxima

Após serem retirados do biotério, os animais foram pesados e um termopar foi fixado à superfície lateral da base da cauda de cada rato. Na sequência, os animais foram submetidos ao exercício na esteira rolante a 60% V_{max} . No decorrer do experimento, foram registradas as variáveis termorregulatórias a cada minuto. O critério adotado

para a interrupção do exercício foi a permanência do animal no choque por dez segundos (SOARES *et al.*, 2007; RODRIGUES *et al.*, 2009; SOARES *et al.*, 2004). Os experimentos foram realizados entre às 7 e 15 h.

2.5.6 Eutanásia

Os animais foram eutanasiados por decapitação com a utilização de uma guilhotina (Insight Equipamentos, Ribeirão Preto, SP, Brasil), após o experimento basal ou exercício submáximo.

Colheita sanguínea

O sangue foi coletado em um tubo de ensaio e centrifugado (centrífuga SIGMA, 2K15, Germany) durante 20 min, a 4°C e 3600 rpm. Os soros foram armazenados em microtubos de 1,5 mL e mantidos a -20°C para as análises posteriores de corticosterona, glicose e triacilglicerol. As variáveis séricas analisadas no presente estudo foram escolhidas considerando trabalhos prévios da literatura, os quais demonstraram que animais manipulados geneticamente que manifestam baixa capacidade para o exercício apresentam um quadro de síndrome metabólica, com hipertriglicemia e hiperglicemia (BUCK *et al.*, 2007; SPARGO *et al.*, 2007). Além disso, esses animais possuem diferenças na concentração de corticosterona após serem submetidos à agentes estressores (BURGHARDT *et al.*, 2011).

Dissecação das áreas cerebrais

Imediatamente após a eutanásia, o cérebro foi removido e foram dissecadas as seguintes áreas: hipotálamo (HP), área pré-óptica (APO), núcleo *accumbens* (Acc) *caudado-putâmen* (CPu) e hipocampo (HC). Essas áreas cerebrais foram escolhidas por receberem eferências de neurônios dopaminérgicos e serotoninérgicos, e em decorrência das participações no controle de funções fisiológicas, tais como: termorregulação, controle motor, regulação hormonal, motivação e reforço positivo (KNAB e LIGHTFOOT, 2010; FOLEY *et al.*, 2008; KOOB *et al.*, 1998; DINAN, 1996; CHAOULOFF *et al.*, 1995; JACOBS e FORNAL, 1995). Para a realização desse procedimento, houve a identificação visual das estruturas seguida da microdissecação do hipotálamo e da área pré-óptica no cérebro intacto (FIG. 5). Na

sequência, o cérebro foi congelado com nitrogênio líquido, e a partir das referências do atlas de Paxinos e Watson (1998) e utilizando a matriz para corte de cérebro de rato (Insight, Ribeirão Preto, SP, Brasil), foram obtidas seções específicas no tecido cerebral. Nas fatias resultantes, foram efetuadas as microdissecções do Acc (na fatia rostral a secção em 0,7 mm anterior ao bregma), CPu (em ambas as fatias resultantes da secção de 0,7 mm anterior ao bregma) (FIG. 6) e HC (na fatia caudal resultante da secção de 5,30 mm posterior ao bregma) (FIG. 7).

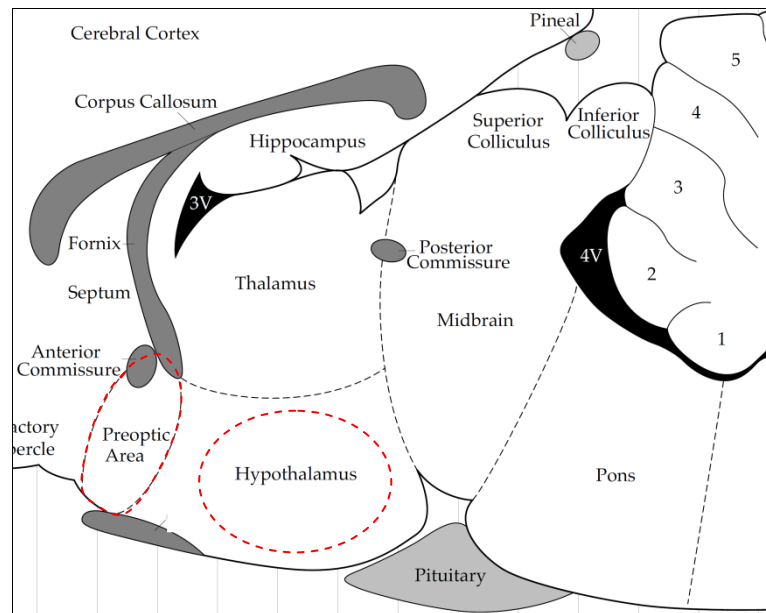
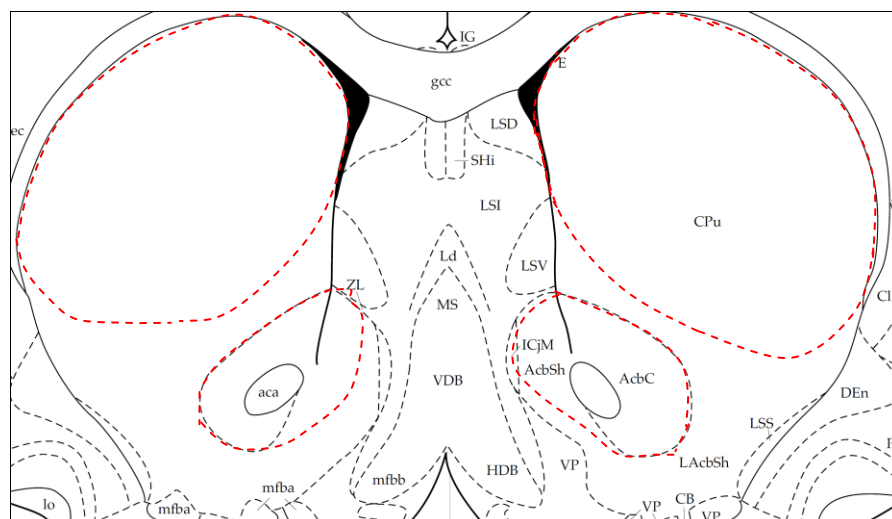
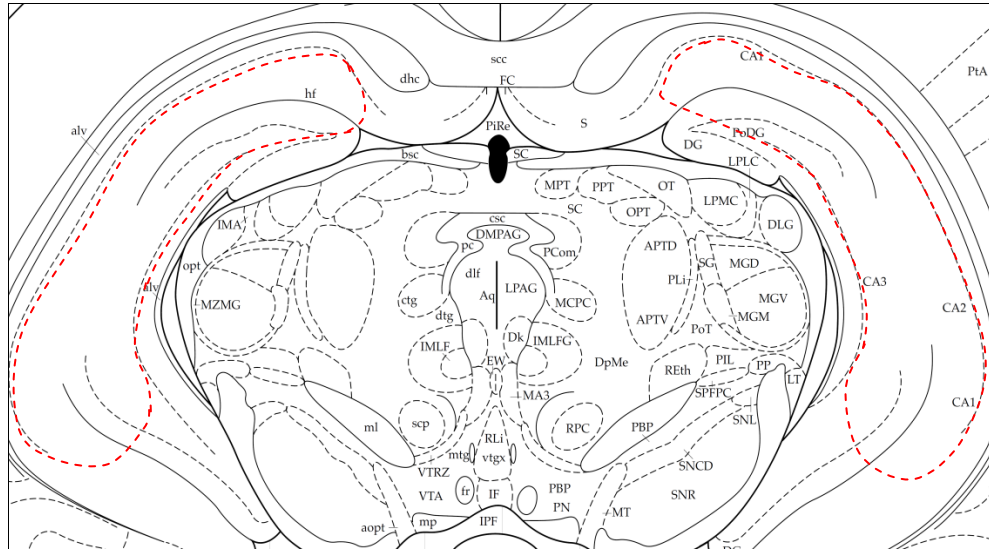


FIGURA 5. Referência para microdissecção da APO e HP – seção sagital (PAXINOS e WATSON, 1998)



0,7 mm em relação ao bregma

FIGURA 6. Referência para microdissecção do CPu e Acc – seção coronal (PAXINOS e WATSON, 1998)



-5,30 mm em relação ao bregma

FIGURA 7. Referência para microdissecação do HC – secção coronal (PAXINOS e WATSON, 1998)

Após a dissecação, as estruturas foram armazenadas em nitrogênio líquido até serem transferidas para um freezer $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. Os tecidos cerebrais foram utilizados para quantificação de 3,4-dihidroxifeniletilamina (dopamina, DA), ácido diidroxifenilacético (DOPAC), 5-hidroxitriptamina (serotonina, 5-HT) e 5-hidroxiindoleacético (5-HIAA).

2.6 Variáveis

2.6.1 Variáveis controladas

Temperatura no interior da esteira (T_{amb} , $^{\circ}\text{C}$)

Durante a realização do exercício, a temperatura no interior da esteira foi controlada com a utilização de ar condicionado e registrada a cada minuto através da utilização de um termopar (YSI-409^B, Yellow Springs Instruments, Dayton, OH, EUA) fixado na parte superior da esteira e acoplado a um teletermômetro (YSI-400^A, Yellow Springs Instruments).

2.6.2 Variáveis dependentes

2.6.2.1 Registradas

Massa corporal (MC, kg)

A massa corporal de cada animal foi considerada um índice do estado de saúde e foi registrada no pré-exercício e no período de recuperação da cirurgia, através da utilização de uma balança com precisão de 0,5 g (Filizola, Belo Horizonte, MG, Brasil).

Temperatura da Cauda (T_{cauda} , °C)

O registro da temperatura da cauda foi realizado com a utilização de um termopar fixado à superfície lateral, a aproximadamente 2 cm da base da cauda, acoplado a um teletermômetro.

Temperatura Intraperitoneal (T_i , °C)

A temperatura intraperitoneal foi utilizada como indicativo da temperatura interna e foi registrada, por telemetria, através da utilização de um sensor (G2-HRE-Mitter). Os dados foram obtidos através das variações de frequência emitidas pelo sensor e captadas por uma placa receptora (ER-4000 energizer/receiver, Mini-Mitter, OR, EUA). A placa, conectada a um computador com o *software* específico (Vital View, Mini-Mitter, OR, EUA), permitiu a transformação dos dados de frequência em valores de temperatura.

Tempo de Exercício (TE, min)

O tempo de exercício (TE) foi registrado com a utilização de um cronômetro com precisão de 0,01 segundo.

2.6.2.2 Calculadas

Trabalho realizado (T; kgm)

O trabalho realizado foi calculado pela fórmula:

$$T = V \cdot TE \cdot \text{sen } \theta \cdot MC \quad (1)$$

Sendo:

V = velocidade (m.min⁻¹);

TE = tempo de exercício (min);

sen θ = seno do ângulo de inclinação da esteira;

MC = massa corporal (kg).

Calor acumulado (CA; cal)

O calor acumulado foi calculado pela fórmula:

$$CA = \Delta T_i \cdot MC \cdot c \quad (2)$$

Sendo:

ΔT_i = variação da temperatura interna (°C) durante o TE;

MC = massa corporal (g);

c = calor específico dos tecidos do animal (0,826 cal.g⁻¹.°C⁻¹).

Índice de dissipação de calor (IDC, °C)

O índice de dissipação de calor foi calculado a partir da fórmula:

$$IDC = \frac{T_{cauda} - T_{amb}}{T_i - T_{amb}} \quad (3)$$

Sendo:

T_{cauda}: temperatura da pele da cauda (°C);

T_i: temperatura interna (°C);

T_{amb}: temperatura no interior da esteira (°C).

2.6.2.3 Analisadas

Neurotransmissores e metabólitos

As concentrações cerebrais de DA, DOPAC, 5-HT e 5-HIAA foram detectadas e quantificadas através da técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) de fase reversa. Para a execução da técnica, foi utilizado um sistema de

cromatografia (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão) formado por uma coluna de carbono 18 (Purospher, 5 m; Merck, Darmstadt, Germany) precedida por uma pré-coluna com a mesma constituição. O potencial elétrico aplicado foi de 850 mV sobre o eletrodo de referência de Ag/AgCl. A fase móvel foi constituída por: 100 mM de dihidrogenofosfato de sódio monohidratado (NaH_2PO_4), 10 mM de cloreto de sódio (NaCl), 0,1 mM de EDTA, 0,14 mM de ácido octanosulfônico, 90% de água MiliQ e 10% de metanol. O pH foi ajustado em 3,5 através do ácido orto-fosfórico 85%. A solução foi filtrada em uma membrana de éster de celulose (0,22 μm de poro, 47 mm de diâmetro, Millipore, SP, Brasil) e inserida no sistema a um fluxo de 1 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$. Os tecidos cerebrais foram homogeneizados em 50 μL (núcleo accumbens e área pré-óptica), 100 μL (hipotálamo e hipocampo) ou 300 μL (caudado-putâmen) de 0,15 M de ácido perclórico com 0,1 mM de EDTA. Foi acrescentado à solução o padrão interno 3,4 dihidroxibenzilamina (DHBA - Aldrich, Milwaukee, MI, EUA) na concentração de 7500 $\text{pg}\cdot\mu\text{L}^{-1}$. Na sequência, após a sonicação do tecido, a solução foi centrifugada por 20 minutos a 12000 rpm e 4°C. O sobrenadante foi filtrado em membrana Millipore (0,22 μm de poro; 13 mm; não estéril, Millex, SP, Brasil) e 20 μL de cada amostra injetada no sistema. A identificação e quantificação de cada pico foram realizadas através da comparação com curva padrão (500, 1000 e 2000 $\text{pg}\cdot\mu\text{L}^{-1}$ de cada padrão), feita previamente. Para relativizar a quantidade de neurotransmissor pela quantidade de tecido cerebral, as proteínas de cada amostra foram quantificadas pelo método de Bradford (BRADFORD, 1976). Desta forma, todos os dados de monoaminas estão expressos em $\text{pg}\cdot\mu\text{g}^{-1}$ de proteína.

Corticosterona sérica

A quantificação da concentração de corticosterona sérica foi efetuada através da técnica de imunensaio. Para realização da análise foi utilizado kit específico (Enzo Life Sciences, Science Pro, São Caetano do Sul, SP, Brasil).

Glicose e triacilglicerol sérico

As determinações das concentrações séricas de glicose e triacilglicerol (TAG) foram feitas através do método enzimático colorimétrico (Labtest, Lagoa Santa, MG, Brasil).

2.7 Análise estatística

Para a verificação da normalidade e homocedasticidade dos dados foram utilizados os testes de *Shapiro-Wilke* e *Levéne*, respectivamente. Como os testes para todas as variáveis estudadas apresentaram resultados positivos, as variáveis, todas de natureza contínua, foram tratadas com métodos de análise paramétrica, utilizando o pacote Sigma Plot 11.

Para as análises ao longo do tempo (T_i , T_{cauda} , IDC) foi utilizada ANOVA *two-way* com medidas repetidas (fontes de variação: capacidade intrínseca para o exercício e tempo). Para a comparação intergrupo das variáveis: TE_{max} , V_{max} , trabalho, calor acumulado, calor acumulado/trabalho, concentração de neurotransmissores e metabólitos, *turnover* dopaminérgico, *turnover* serotoninérgico, concentração de corticosterona, glicose e TAG sérico utilizou-se ANOVA *one-way* (fonte de variação: capacidade intrínseca). Nos casos em que foi observado um valor significativo de F , foi aplicado um teste de *post-hoc* adequado ao coeficiente de variação da variável e ao delineamento experimental. Já para a comparação das variáveis: *turnover* dopaminérgico, *turnover* serotoninérgico, concentração de corticosterona, glicose e TAG séricos na análise intragrupo, entre a situação basal e exercício, utilizou-se teste t de *Student* não-pareado. Para avaliar a força de associação entre as monoaminas e o TE, monoaminas e T_i , T_i e TE foi utilizada a correlação de *Pearson*. O nível de significância adotado foi de $\alpha = 5\%$ (SAMPAIO, 2007).

3 RESULTADOS

3.1 **Experimento 1** - Verificar se a capacidade intrínseca para o exercício está associada com as concentrações basais centrais de dopamina (DA), serotonina (5-HT) e seus metabólitos DOPAC e 5-HIAA, respectivamente.

3.1.1 *Desempenho nos animais selecionados*

A partir do histograma de distribuição de frequência do tempo de exercício, foi possível selecionar animais com diferenças na capacidade intrínseca para o exercício. Os animais foram classificados em: CM, CB e CA. Conforme exposto no GRAF. 1, como parâmetros de desempenho foram utilizadas as variáveis: TE_{max} (A), V_{max} (B) e trabalho (C), obtidas nos testes de esforço progressivo. Os valores dessas variáveis foram maiores no grupo CA quando comparados aos grupos CM e CB, e foram menores no grupo CB em relação ao CM ($P < 0,001$ para todas as comparações).

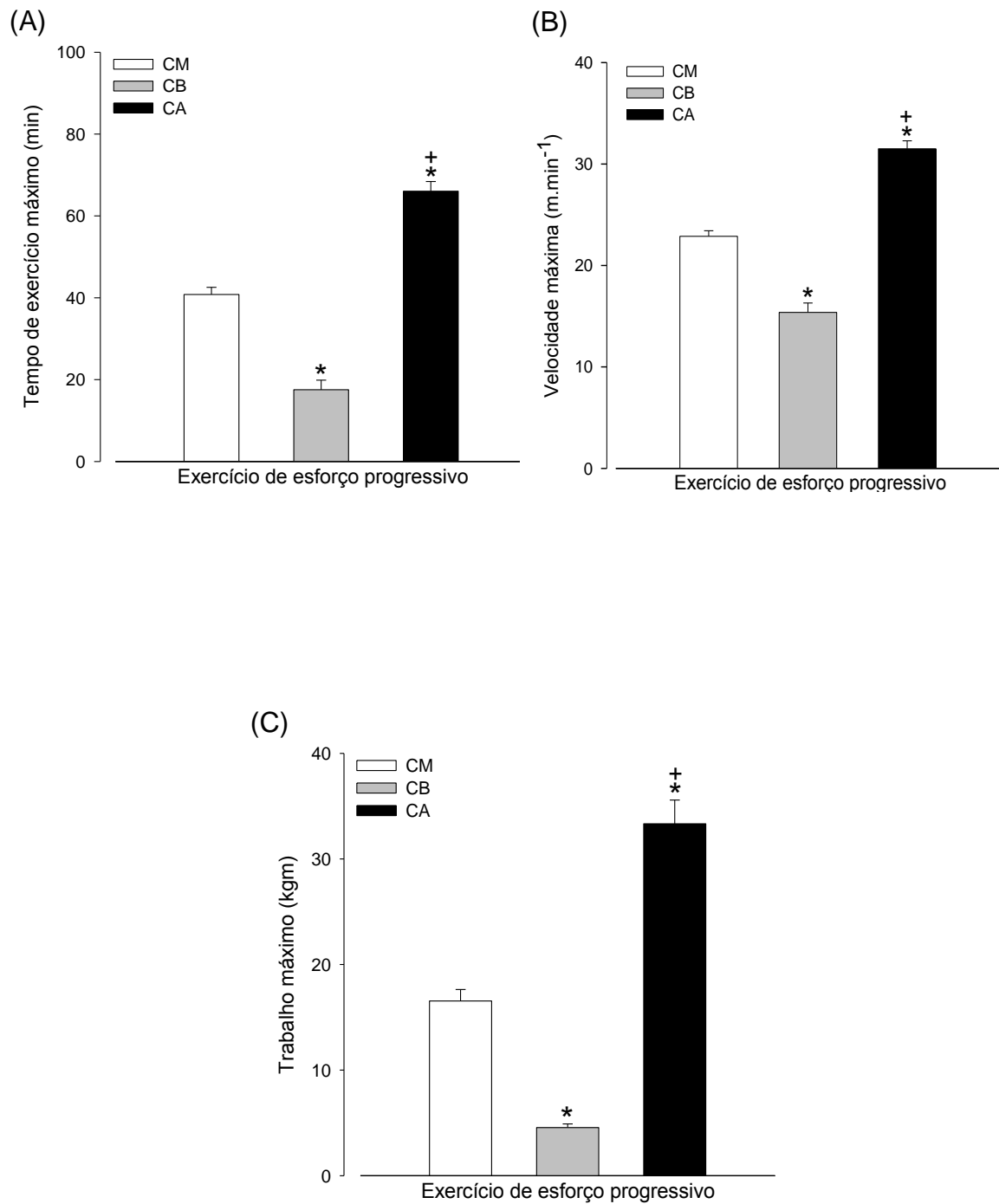


GRÁFICO 1. Desempenho físico dos animais submetidos ao experimento 1 (n = 8 para cada grupo). (A) TE_{max} - CM: $40,8 \pm 1,7$; CB: $17,5 \pm 2,3$; CA: $66,0 \pm 2,4$ min. (B) V_{max} - CM: $22,9 \pm 0,5$; CB: $15,4 \pm 0,9$; CA: $31,5 \pm 0,8$ m.min⁻¹. (C) Trabalho_{max} - CM: $16,5 \pm 3,1$; CB: $4,6 \pm 0,9$; CA: $33,3 \pm 6,3$ kgm. * diferença em relação à CM, + diferença entre CB e CA. Os dados estão expressos como média ± EPM.

3.1.2 Variáveis séricas

As concentrações séricas de glicose e triacilglicerol, após o período noturno (pós-prandial), foram analisadas nos três grupos experimentais, não diferindo entre os mesmos (TAB. 3).

TABELA 3. Concentrações séricas basais de glicose e triacilglicerol

	CM	CB	CA	<i>P</i>
Glicose (mg.dL ⁻¹)	136,9 ± 2,1	139,6 ± 1,9	139,9 ± 4,5	0,76
Triacilglicerol (mg.dL ⁻¹)	131,5 ± 8,9	128,7 ± 8,7	129,5 ± 7,3	0,97

(n = 8 para cada grupo). Os dados estão expressos como média ± EPM.

A concentração de corticosterona foi analisada nos grupos experimentais, após o período noturno. Em relação a este hormônio, não foram observadas diferenças entre os grupos (GRAF. 2).

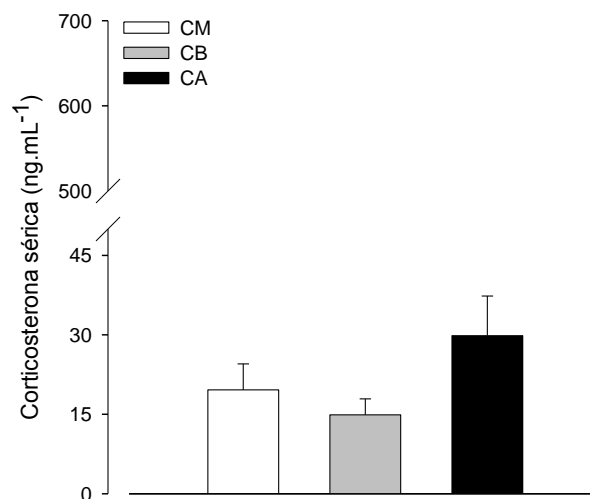


GRÁFICO 2. Concentração sérica basal de corticosterona (n = 7, para cada grupo). CM: 19,6 ± 4,9; CB: 14,9 ± 3,0; CA: 29,8 ± 7,5 ng.mL⁻¹ (*P* = 0,16). Os dados estão expressos como média ± EPM.

3.1.3 Variáveis centrais

Os resultados descritos na sequência representam as diferenças intrínsecas nos neurotransmissores e seus metabólitos.

3.1.3.1 Caudado-putâmen

No *caudado-putâmen* (CPu), área associada ao controle motor, as concentrações de DA e DOPAC não foram diferentes entre os grupos. Já a razão DOPAC/DA, indicativa do *turnover* dopaminérgico, foi maior nos animais CA quando comparados aos de CM e CB (CM: $0,19 \pm 0,02$ vs. CB: $0,20 \pm 0,01$ vs. CA: $0,29 \pm 0,03$; $P = 0,02$ para ambas as comparações) (GRAF. 3).

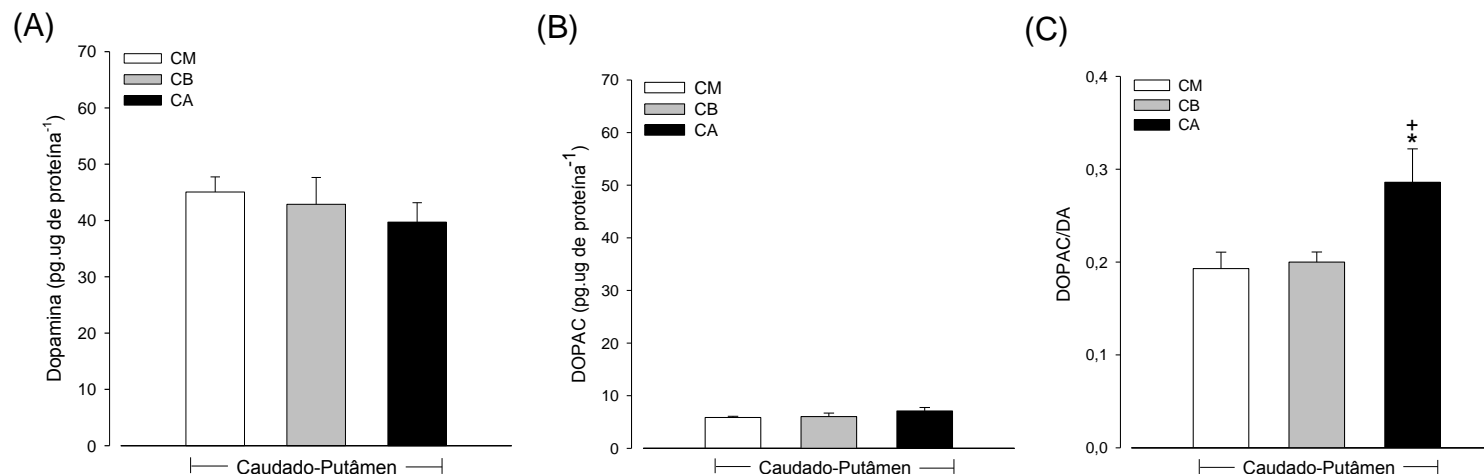


GRÁFICO 3. Dados basais das variáveis dopaminérgicas no CPu. (A) Concentração de dopamina - CM (n = 8): $45,06 \pm 2,69$; CB (n = 7): $42,88 \pm 4,78$; CA (n = 8): $39,72 \pm 3,46$ pg.ug de proteína⁻¹; $P = 0,60$. (B) Concentração de DOPAC - CM (n = 8): $5,86 \pm 0,22$; CB (n = 7): $6,04 \pm 0,66$; CA (n = 8): $7,10 \pm 0,65$ pg.ug de proteína⁻¹; $P = 0,29$. (C) Razão DOPAC/DA (CB: n = 6; CM e CA: 8 para cada grupo). * diferença em relação a CM, + diferença entre CB e CA. Os dados estão expressos como média ± EPM.

Em relação ao sistema serotoninérgico, o grupo CA apresentou menor concentração de 5-HT quando comparado ao CM e CB (CM: $1,51 \pm 0,05$ vs. CB: $1,53 \pm 0,17$ vs. CA: $0,93 \pm 0,05$ pg.µg de proteína⁻¹; $P = 0,02$ para ambas as comparações), e menor concentração de 5-HIAA em relação ao grupo CB (CM: $1,53 \pm 0,12$ vs. CB: $1,76 \pm 0,10$ vs. CA: $1,23 \pm 0,09$ pg.µg de proteína⁻¹; $P = 0,01$) (GRAF. 4).

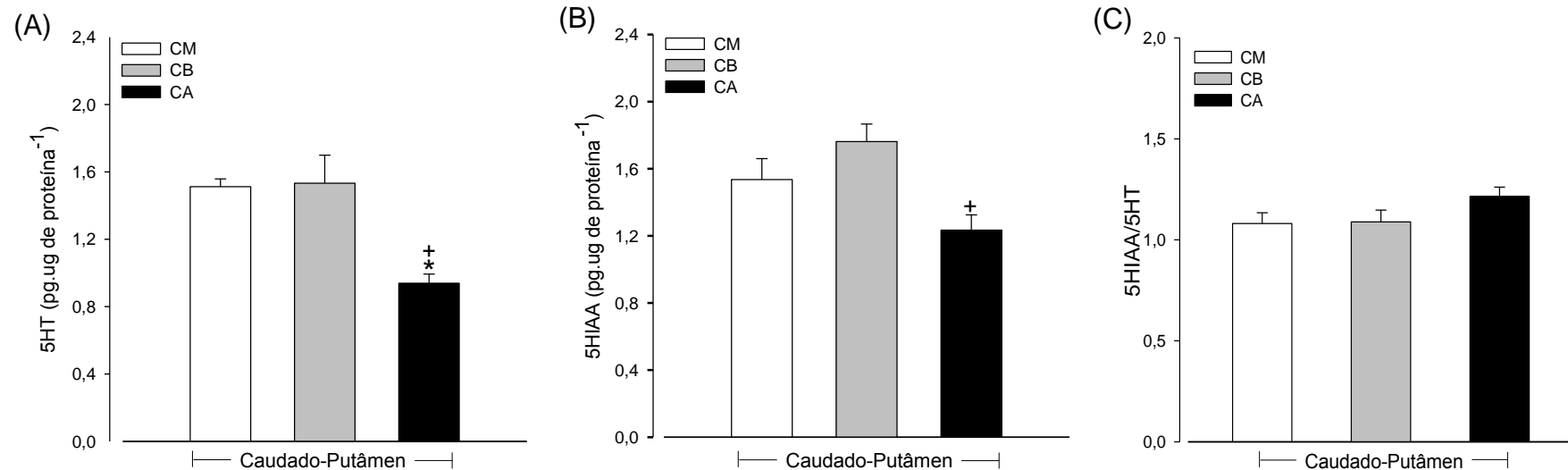


GRÁFICO 4. Dados basais das variáveis serotoninérgicas no CPu. (A) Concentração de serotonina - CM: n = 7; CB: n = 8; CA: n = 8. (B) Concentração de 5-HIAA - CM: n = 7; CB: n = 8; CA: n = 7. (C) Razão 5-HIAA/5-HT - CM (n = 7): $1,08 \pm 0,05$; CB (n = 8): $1,09 \pm 0,05$; CA (n = 7): $1,21 \pm 0,05$; $P = 0,16$. * diferença em relação à CM, † diferença entre CB e CA. Os dados estão expressos como média ± EPM.

Além das diferenças observadas isoladamente nas variáveis serotoninérgicas e dopaminérgicas, a razão 5-HT/DA, alusiva da relação inibitória recíproca entre os dois sistemas, no CPu, foi menor nos animais de CA em comparação aos animais de CM e CB (CM: $0,046 \pm 0,003$ vs. CB: $0,047 \pm 0,002$ vs. CA: $0,039 \pm 0,002$; $P = 0,03$ para CA vs. CB; $P = 0,04$ para CA vs. CM) (GRAF. 5).

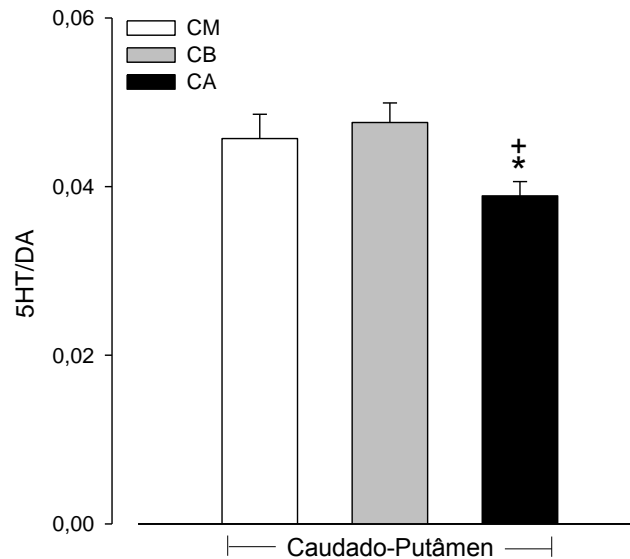


GRÁFICO 5. Relação basal de 5-HT/DA no CPu (CM: n = 7, CB: n = 7, CA: n = 8). * diferença em relação à CM, + diferença entre CB e CA. Os dados estão expressos como média ± EPM.

Na análise de todos os animais agrupados, houve correlação positiva entre a razão DOPAC/DA e o TE_{max} (GRAF. 6A), e negativa entre a concentração de 5-HT e o TE_{max} (GRAF. 6B). Observou-se também, correlação negativa entre a relação 5-HT/DA e o TE_{max} (GRAF. 6C).

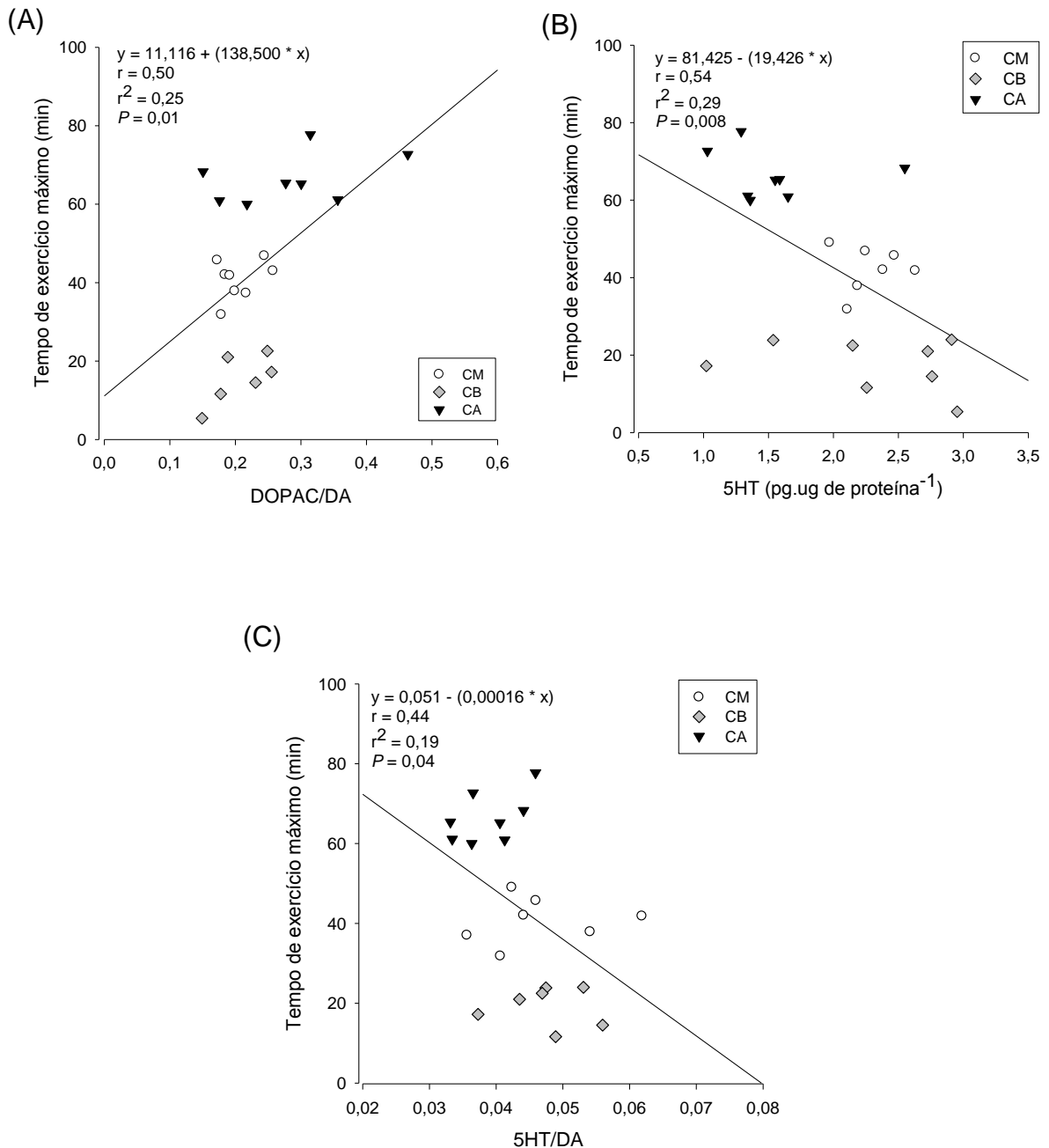


GRÁFICO 6. Correlações entre as variáveis dopaminérgicas e serotoninérgicas no CPu com o TE_{max} . (A) Correlação entre a razão DOPAC/DA e o TE_{max} . (B) Correlação entre 5-HT e o TE_{max} . (C) Correlação entre 5-HT/DA e o TE_{max} .

3.1.3.2 Núcleo accumbens

As variáveis dopaminérgicas e serotoninérgicas, no Acc, área relacionada ao aspecto motivacional para o exercício, não diferiram entre os grupos experimentais (TAB. 4).

TABELA 4. Dados basais das variáveis dopaminérgicas e serotoninérgicas no núcleo *accumbens*

Núcleo <i>accumbens</i>	CM	CB	CA	<i>P</i>
DA (pg.µg de proteína ⁻¹)	6,38 ± 0,86	8,21 ± 0,68	6,72 ± 1,25	0,41
DOPAC (pg.µg de proteína ⁻¹)	6,31 ± 0,54	7,12 ± 0,74	6,23 ± 0,43	0,51
5-HT (pg.µg de proteína ⁻¹)	0,57 ± 0,07	0,69 ± 0,03	0,58 ± 0,09	0,45
5-HIAA (pg.µg de proteína ⁻¹)	1,10 ± 0,10	1,27 ± 0,07	1,14 ± 0,11	0,42
DOPAC/DA	1,09 ± 0,50	0,76 ± 0,03	1,24 ± 0,22	0,13
5-HIAA/5-HT	2,05 ± 0,19	1,79 ± 0,11	2,29 ± 0,39	0,40

(n = 8 para cada grupo). Os dados estão expressos como média ± EPM.

Entretanto, foi encontrada correlação positiva entre a concentração de DA e o TE_{max} (GRAF. 7A), e a concentração de DOPAC e o TE_{max} (GRAF. 7B), nos animais de CA.

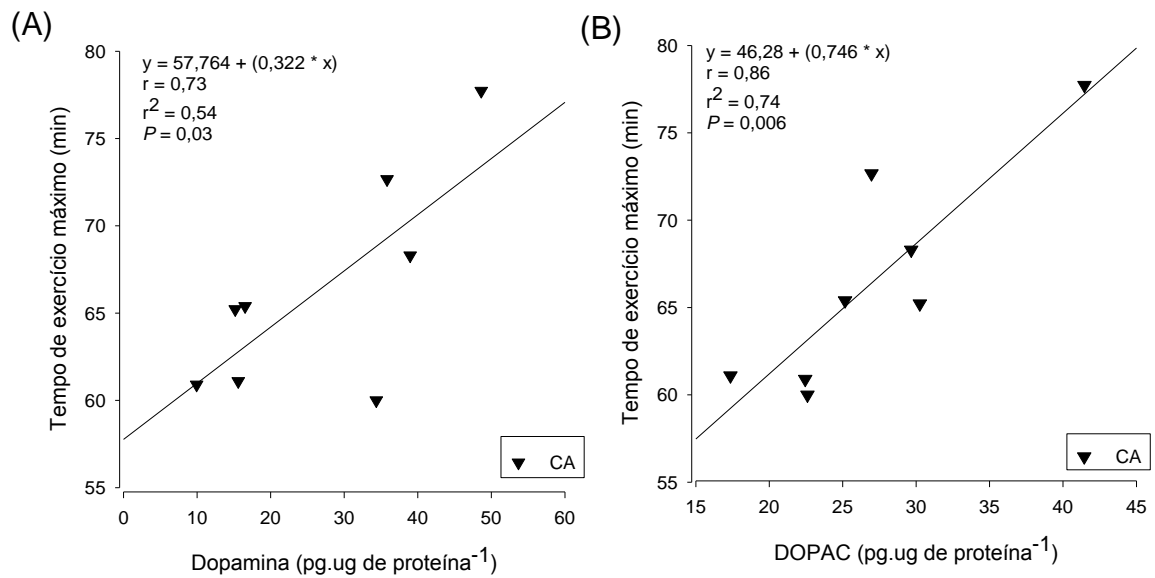


GRÁFICO 7. Correlação entre as variáveis dopaminérgicas no Acc e o TE_{max} . (A) Correlação entre dopamina e o TE_{max} , nos animais de CA. (B) Correlação entre DOPAC e o TE_{max} , nos animais de CA (n = 8).

3.1.3.3 Hipocampo

No HC, a concentração de DA não diferiu entre os animais dos diferentes grupos (TAB. 5). Em relação ao metabólito DOPAC, não foi possível sua identificação nessa área cerebral dos animais eutanasiados na situação basal.

TABELA 5. Dado basal da dopamina no hipocampo

Hipocampo	CM	CB	CA	<i>P</i>
DA (pg.µg de proteína ⁻¹)	0,77 ± 0,04	0,88 ± 0,01	0,80 ± 0,10	0,67

(n = 8 para cada grupo). Os dados estão expressos como média ± EPM.

No sistema serotoninérgico, os animais de CB apresentaram maior concentração do metabólito 5-HIAA quando comparados com os animais de CM e CA (CM: $2,65 \pm 0,07$ vs. CB: $3,06 \pm 0,10$ vs. CA: $2,69 \pm 0,11$ pg.µg de proteína⁻¹; $P = 0,02$ para CB vs. CM e $P = 0,02$ para CB vs. CA). Além disso, no grupo CB identificou-se maior *turnover* serotoninérgico em relação ao grupo CA (CM: $1,77 \pm 0,09$ vs. CB: $2,13 \pm 0,15$ vs. CA: $1,56 \pm 0,22$; $P = 0,04$ para CB vs. CA) (GRAF. 8).

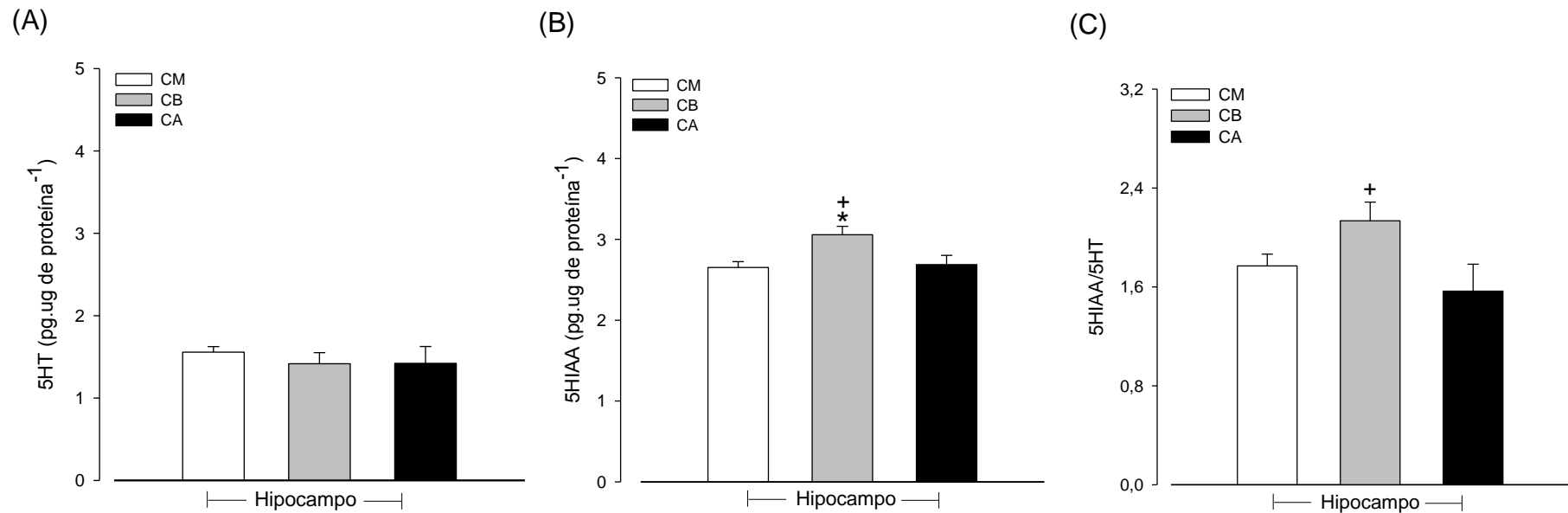


GRÁFICO 8. Dados basais das variáveis serotoninérgicas no HC. (A) Concentração de 5-HT - CM (n = 8): $1,56 \pm 0,07$; CB (n = 8): $1,42 \pm 0,13$; CA (n = 7): $1,42 \pm 0,20$ pg.µg de proteína⁻¹; $P = 0,72$. (B) Concentração de 5-HIAA: n = 8 em cada grupo. (C) Razão 5-HIAA/5-HT: n = 8 para CM e CB, n = 7 para CA. * diferença em relação à CM, + diferença entre CB e CA. Os dados estão expressos como média ± EPM.

3.1.3.4 Hipotálamo

No HP, nas variáveis do sistema dopaminérgico, não foram observadas diferenças entre os grupos. Entretanto, em relação ao sistema serotoninérgico, houve menor concentração de 5-HIAA no grupo de CA comparado à CB ($P = 0,03$) (TAB. 6).

TABELA 6. Dados basais das variáveis dopaminérgicas e serotoninérgicas no hipotálamo

Hipotálamo	CM	CB	CA	<i>P</i>
DA (pg.µg de proteína ⁻¹)	1,68 ± 0,16	2,07 ± 0,25	1,79 ± 0,22	0,43
DOPAC (pg.µg de proteína ⁻¹)	1,79 ± 0,21	1,55 ± 0,16	1,83 ± 0,19	0,55
DOPAC/DA	1,09 ± 0,11	0,76 ± 0,05	1,13 ± 0,16	0,08
5-HT (pg.µg de proteína ⁻¹)	2,39 ± 0,24	3,12 ± 0,28	2,48 ± 0,31	0,15
5-HIAA (pg.µg de proteína ⁻¹)	4,99 ± 0,18	5,35 ± 0,28	4,46 ± 0,23 ⁺	0,03
5-HIAA/5-HT	2,27 ± 0,27	1,79 ± 0,15	1,77 ± 0,18	0,19

(n = 8 para cada grupo). ⁺ diferença entre CB e CA. Os dados estão expressos como média ± EPM.

3.1.3.5 Área pré-óptica

No GRAF. 9 observa-se as concentrações de DA, DOPAC e a razão DOPAC/DA na APO dos animais com diferenças na capacidade intrínseca para o exercício. A concentração de DA foi maior nos animais de CA comparados à CM e CB (CM: $7,72 \pm 0,63$; CB: $8,45 \pm 0,66$; CA: $11,50 \pm 1,53$ pg.µg de proteína⁻¹; $P = 0,04$ para todas as comparações).

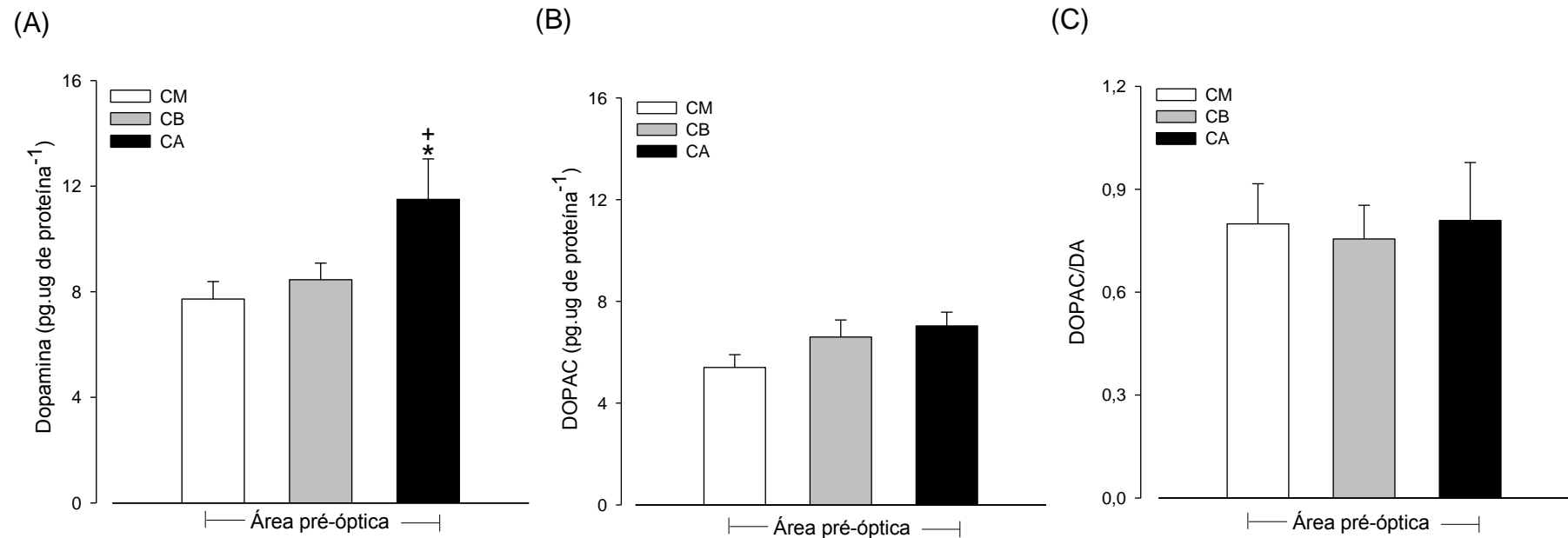


GRÁFICO 9. Dados basais das variáveis dopaminérgicas na APO. (A) Concentração de DA - n=8 para cada grupo. (B) Concentração de DOPAC - CM (n = 7): $5,40 \pm 0,50$; CB (n = 8): $6,60 \pm 0,67$; CA (n = 8): $7,03 \pm 0,54$ pg.µg de proteína⁻¹; $P = 0,11$. (C) Razão DOPAC/DA - CM (n = 7): $0,80 \pm 0,11$; CB (n = 8): $0,75 \pm 0,09$; CA (n = 8): $0,81 \pm 0,17$; $P = 0,95$. * diferença em relação à CM, + diferença entre CB e CA. Os dados estão expressos como média \pm EPM.

Em relação às variáveis do sistema serotoninérgico, não foram observadas diferenças entre os grupos experimentais (TAB. 7).

TABELA 7. Dados basais das variáveis serotoninérgicas na área pré-óptica

Área pré-óptica	CM	CB	CA	<i>P</i>
5-HT (pg.µg de proteína ⁻¹)	6,87 ± 0,37	7,39 ± 0,73	7,58 ± 0,19	0,61
5-HIAA (pg.µg de proteína ⁻¹)	1,26 ± 0,09	1,29 ± 0,13	1,52 ± 0,08	0,15
5-HIAA/5-HT	0,17 ± 0,009	0,17 ± 0,004	0,19 ± 0,09	0,16

(n = 8 para cada grupo). Os dados estão expressos como média ± EPM.

3.2 Experimento 2 - Verificar se a capacidade intrínseca para o exercício está associada com diferenças na concentração centrais de dopamina (DA), serotonina (5-HT) e seus metabólitos DOPAC e 5-HIAA, respectivamente, após a realização de um exercício físico.

3.2.1 Desempenho nos animais selecionados

O GRAF. 10 apresenta o TE_{max} (A) e a V_{max} (B), durante os testes progressivos, nos animais com diferença na capacidade intrínseca para o exercício, selecionados para o experimento 2. Conforme demonstrado, ambas as variáveis foram maiores nos animais de CA em relação ao CB e CM e menores nos de CB quando comparados aos animais com CM ($P < 0,001$ para todas as comparações).

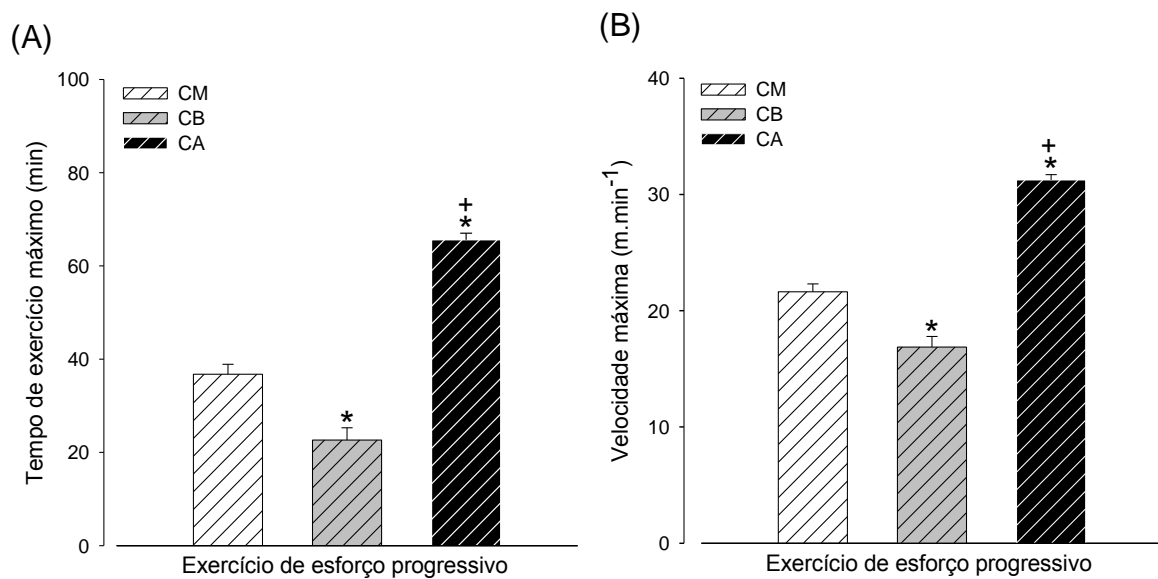


GRÁFICO 10. Desempenho físico no teste de esforço progressivo dos animais submetidos ao experimento 2 (n = 8 para cada grupo). (A) TE_{max} - CM: $36,8 \pm 2,1$; CB: $24,7 \pm 1,2$; CA: $65,6 \pm 1,4$ min. (B) V_{max} - CM: $21,6 \pm 0,7$; CB: $16,9 \pm 0,9$; CA: $31,2 \pm 0,4$ m.min⁻¹. * diferença em relação à CM, ⁺ diferença entre CB e CA. Os dados estão expressos com média ± EPM.

Após a realização do protocolo de testes progressivos, os animais do experimento dois foram submetidos a um exercício a 60% da V_{max} , (CM: $12,9 \pm 0,4$; CB: $10,1 \pm 0,5$; CA: $18,7 \pm 0,3 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$). O TE (GRAF. 11A) e o trabalho (GRAF. 11B) foram superiores nos animais de CA quando comparados aos de CM e CB e menores nos de CB em relação aos de CM ($P < 0,001$ para todas as comparações). Durante a realização do protocolo foram efetuados os registros das variáveis termorregulatórias.

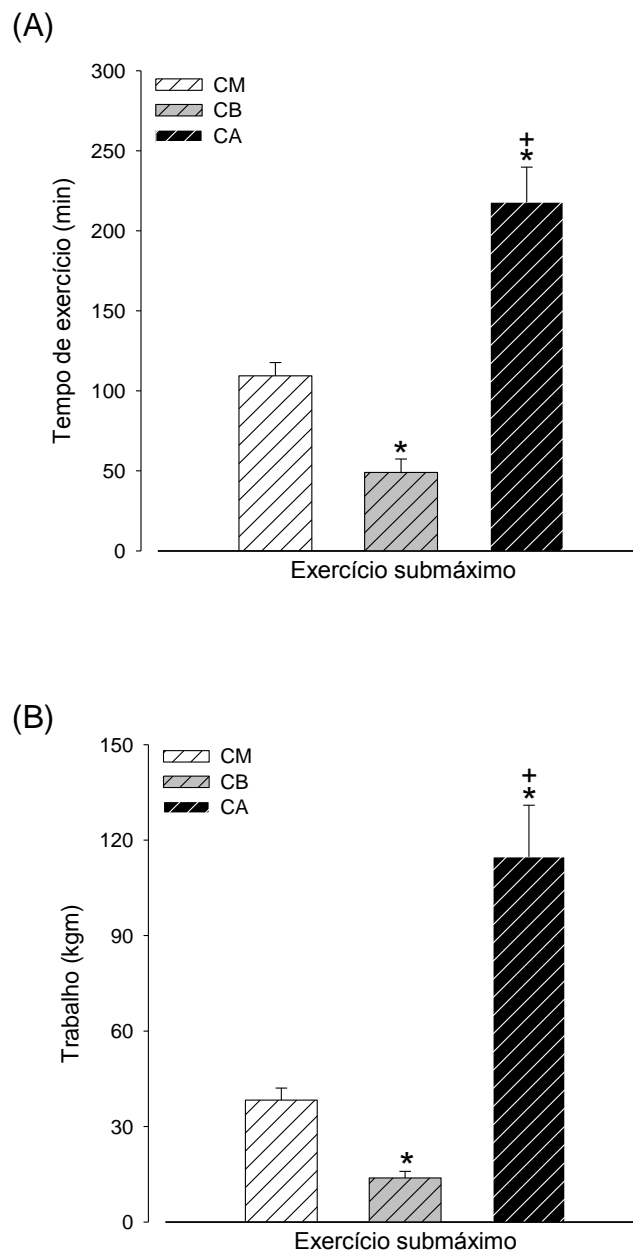


GRÁFICO 11. Desempenho físico dos animais submetidos ao exercício submáximo ($n = 8$ para cada grupo). (A) TE - CM: $109,4 \pm 8,3$; CB: $49,0 \pm 8,4$; CA: $217,9 \pm 21,4$ min. (B) Trabalho realizado - CM: $38,3 \pm 3,7$; CB: $13,8 \pm 2,1$; CA: $114,7 \pm 16,2$ kgm. * diferença em relação à CM, + diferença entre CB e CA. Os dados estão expressos como média \pm EPM.

3.2.2 Variáveis séricas

As concentrações dos substratos energéticos, glicose e triacilglicerol, não diferiram entre os grupos experimentais, após a realização do exercício (TAB. 8).

TABELA 8. Concentrações séricas pós-exercício de glicose e triacilglicerol

	CM	CB	CA	<i>P</i>
Glicose (mg.dL ⁻¹)	141,0 ± 4,9	137,8 ± 4,7	128,6 ± 8,9	0,36
Triacilglicerol (mg.dL ⁻¹)	89,5 ± 9,5	131,7 ± 17,0	99,9 ± 12,9	0,09

CM (n = 8); CB (n = 8); CA (n = 8). Os dados estão expressos como média ± EPM.

Após a realização do exercício a 60% da V_{max} a concentração de corticosterona não diferiu entre os grupos experimentais (GRAF. 12).

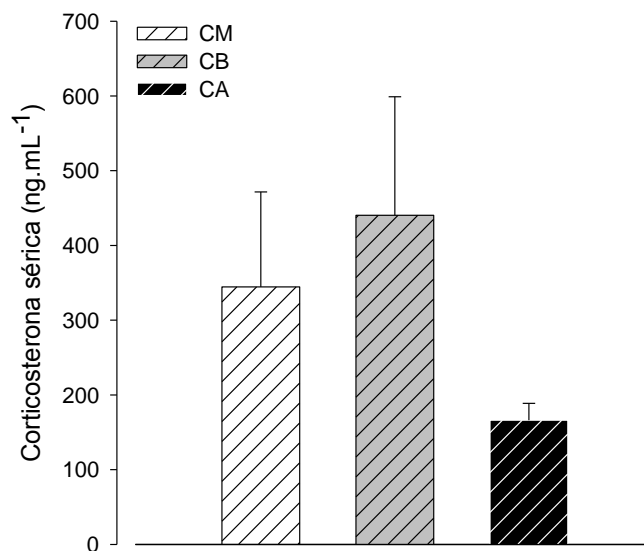


GRÁFICO 12. Concentração sérica pós-exercício de corticosterona. CM (n = 5): 344,4 ± 127,1; CB (n = 6): 440,2 ± 158,7; CA (n = 6): 166,2 ± 22,6 ng.mL⁻¹; *P* = 0,16. Os dados estão expressos como média ± EPM.

3.2.3 Variáveis termorregulatórias

3.2.3.1 Temperatura intraperitoneal e temperatura da cauda

Os gráficos abaixo mostram as temperaturas: intraperitoneal (T_i) e da cauda (T_{cauda}) durante os protocolos de repouso (GRAF. 13) e exercício (GRAF. 14). No protocolo de repouso, os ratos permaneceram em suas caixas durante 60 min, após a estabilização das variáveis. Em relação ao exercício, os valores foram plotados até o momento em que foi possível a obtenção dos dados de todos os animais de cada grupo experimental, assim, a T_i e T_{cauda} estão plotadas até 25 min para o grupo CB, 76 min para CM e 156 min para CA.

Durante o protocolo de repouso, a temperatura ambiente foi mantida em $24,45 \pm 0,78$ °C – dado apresentado como média \pm DP. Não foram observadas diferenças na T_i (GRAF. 13A) ou T_{cauda} (GRAF. 13B) na comparação entre os grupos ou ao longo do tempo.

No exercício, a temperatura ambiente foi mantida em $25,64 \pm 0,91$ °C – dado apresentado como média \pm DP. A T_i nos animais de CM e CB aumentou a partir do 7° min. Nos animais de CA houve aumento da T_i após o 4° min (GRAF. 14A). Em relação à T_{cauda} , observou-se aumento ao longo do tempo a partir do 20° min para CM, 15° min para CB e 13° min para CA (GRAF. 14B). Na comparação entre os grupos, não foram observadas diferenças para ambas as variáveis no decorrer dos primeiros 25 min de exercício. Entretanto, no momento da interrupção do esforço, os animais de CA ($39,13 \pm 0,26$ °C) alcançaram maiores valores de T_i em relação aos grupos CB ($37,80 \pm 0,27$ °C) e CM ($38,17 \pm 0,36$ °C) (GRAF. 14A). Neste momento também ocorreu diferença na T_{cauda} , que foi menor no grupo de CB ($30,90 \pm 0,56$ °C) em relação aos grupos CM ($32,55 \pm 0,15$ °C) e CA ($32,04 \pm 0,21$ °C) (GRAF. 14B).

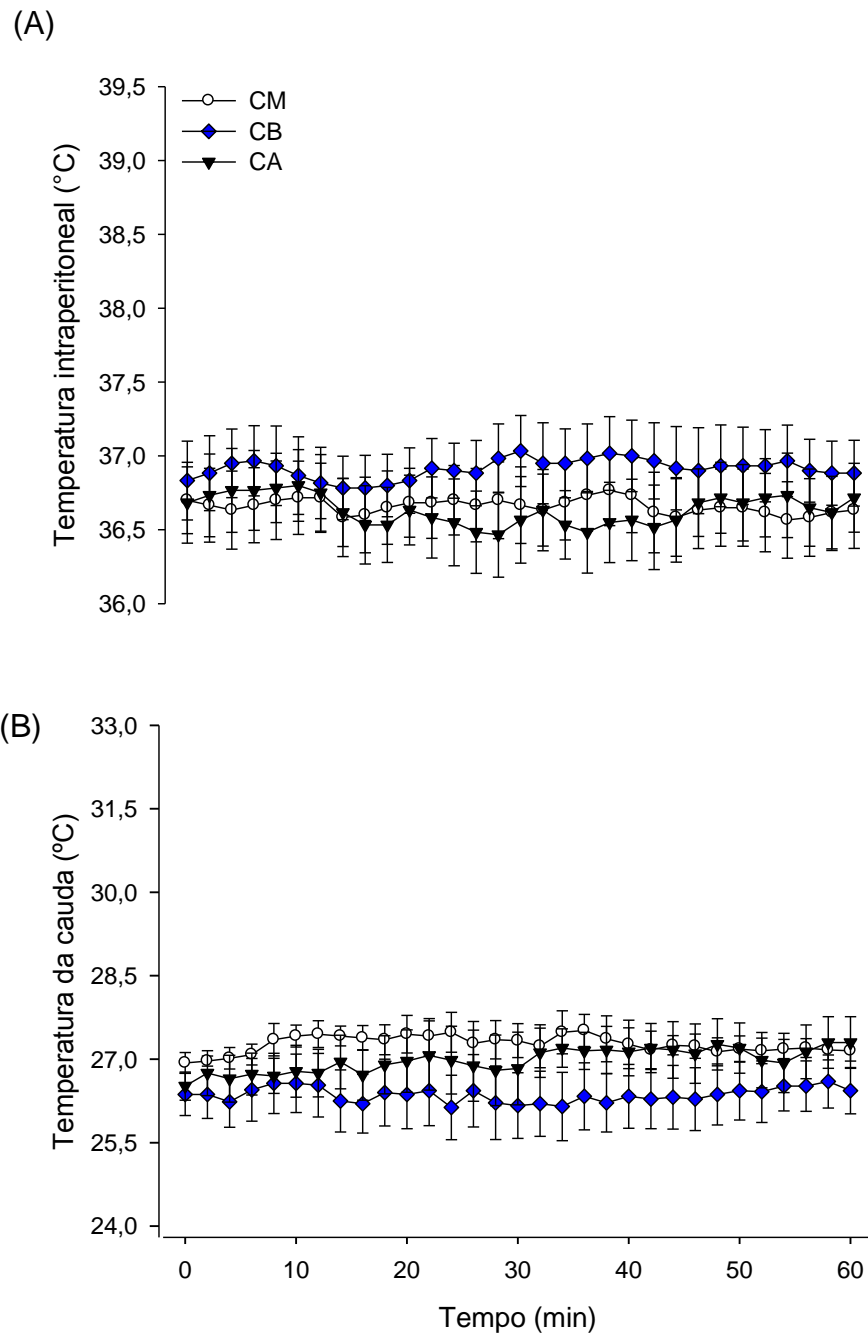


GRÁFICO 13. Dados das variáveis termorregulatórias durante o repouso. (A) Temperatura intraperitoneal ($n = 6$ para cada grupo). (B) Temperatura da cauda ($n = 6$ para cada grupo). Os dados estão expressos como média \pm EPM.

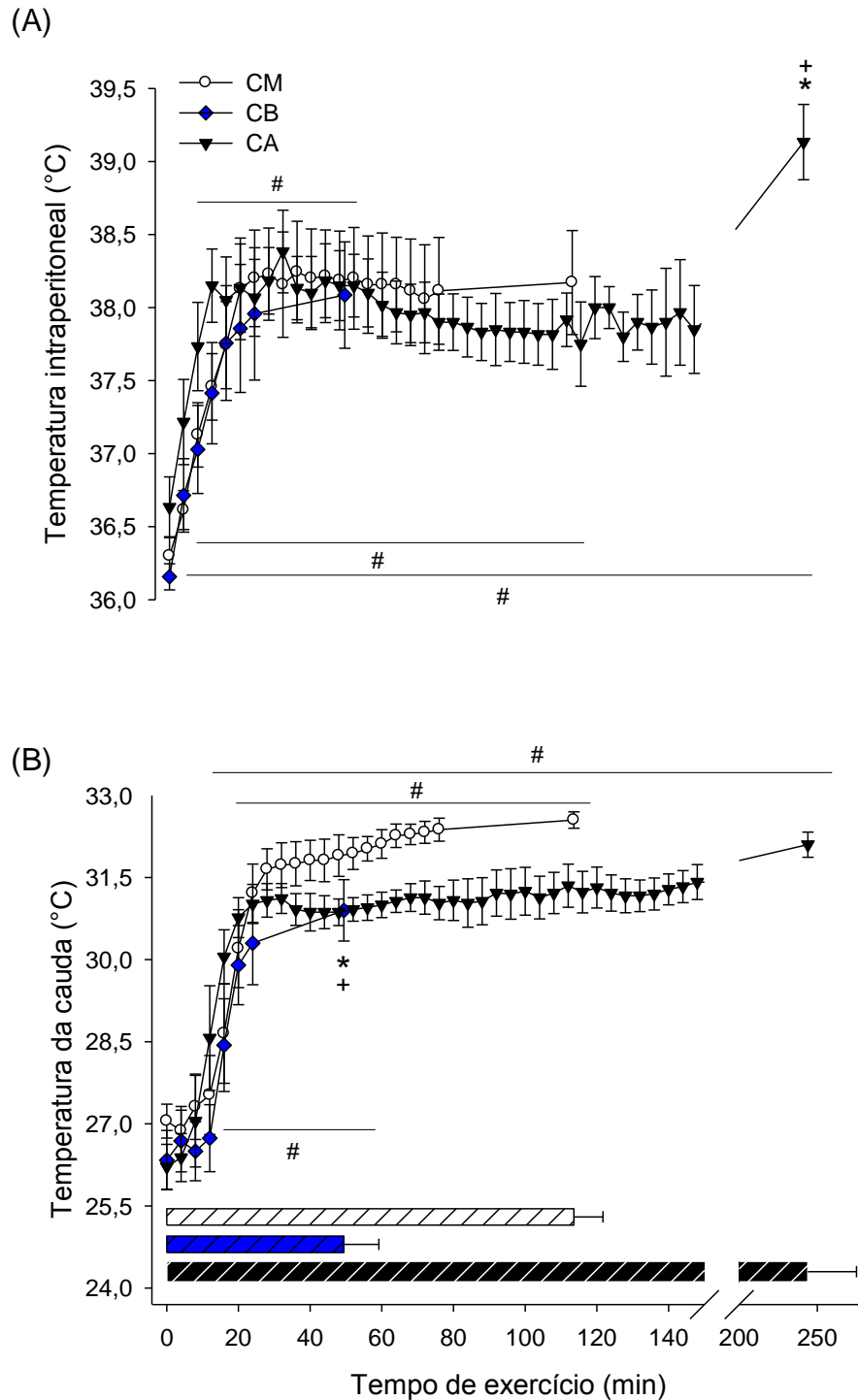


GRÁFICO 14. Dados das variáveis termorregulatórias durante o exercício submáximo. (A) Temperatura intraperitoneal ($n = 6$ para CB e CA; $n = 7$ para CM). (B) Temperatura da cauda ($n = 6$ para CB e CA; $n = 7$ para CM). # diferença em relação ao início do exercício ($p < 0,05$), * diferença em relação à CM, no momento da interrupção do exercício ($P < 0,05$), + diferença entre CB e CA, no momento da interrupção do exercício ($P < 0,05$). Os dados estão expressos como média \pm EPM.

Conforme exposto no GRAF. 15, para a análise de todos os animais agrupados, houve correlação positiva entre os valores finais de T_i e o T_E ($P = 0,003$).

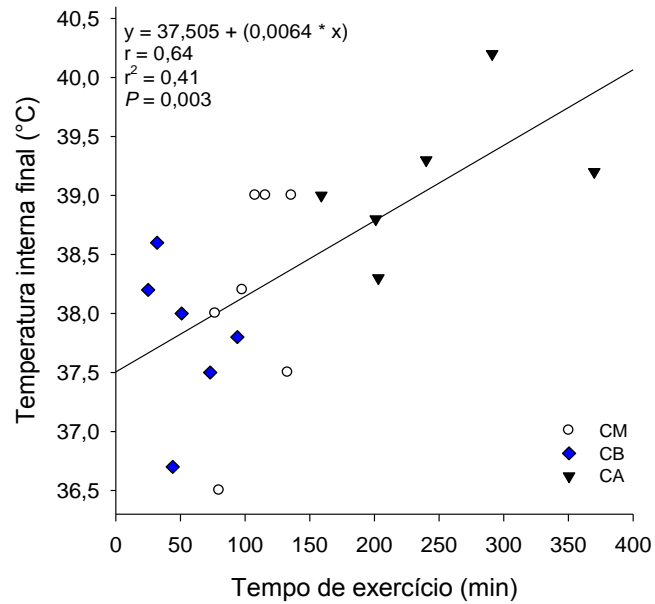


GRÁFICO 15. Correlação entre T_i final e T_E no exercício submáximo.

3.2.3.2 Índice de dissipação de calor

O índice de dissipação de calor (IDC) aumentou a partir do 14° min de exercício para o grupo de CM, 16° min para CB e 12° min para CA (GRAF. 16). Não foram evidenciadas diferenças na comparação entre os grupos.

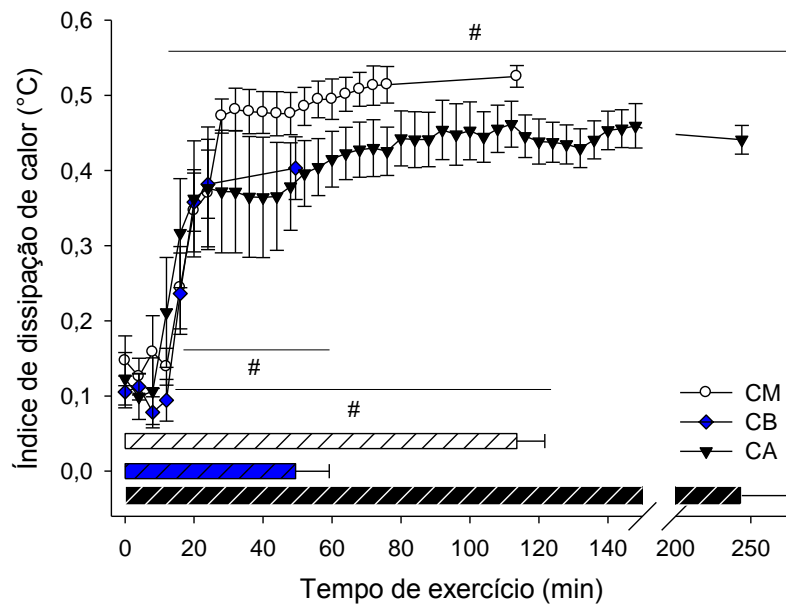


GRÁFICO 16. Índice de dissipação de calor durante o exercício submáximo (n = 6 para CB e CA, n = 7 para CM). # diferença em relação ao início do exercício ($P < 0,05$). Os dados estão expressos como média \pm EPM.

3.2.3.3 Calor acumulado

O calor acumulado não diferiu entre os grupos (CM: $455,7 \pm 58,7$; CB: $443,9 \pm 73,4$; CA: $589,2 \pm 70,6$ cal; $P = 0,28$) (GRAF. 17A). Considerando a discrepância no desempenho e a diferença na velocidade de corrida entre os grupos experimentais, o calor acumulado foi calculado, também, em função da quantidade de trabalho realizado até o momento em que todos os animais executavam o exercício (25 min) e em função do trabalho total executado. O calor acumulado relativizado pelo trabalho, nos primeiros 25 min de exercício, foi menor nos animais de CA em relação ao de CM e CB (CA: $27,6 \pm 3,2$; CM: $54,5 \pm 7,0$; CB: $63,2 \pm 5,9$ cal.kgm⁻¹. $P = 0,003$ para CB vs. CA e $P = 0,004$ para CM vs. CA) (GRAF. 17B). Já o calor acumulado relativizado pelo trabalho, durante todo o exercício, foi maior nos animais de CB quando comparados aos grupos de CM e CA (CB: $35,7 \pm 9,9$; CM: $12,3 \pm 2,3$; CA: $5,4 \pm 0,7$ cal.kgm⁻¹. $P = 0,009$ para CM vs. CB e $P = 0,005$ para CB vs. CA) e menor nos ratos de CA em relação aos de CM ($P = 0,02$) (GRAF. 17C).

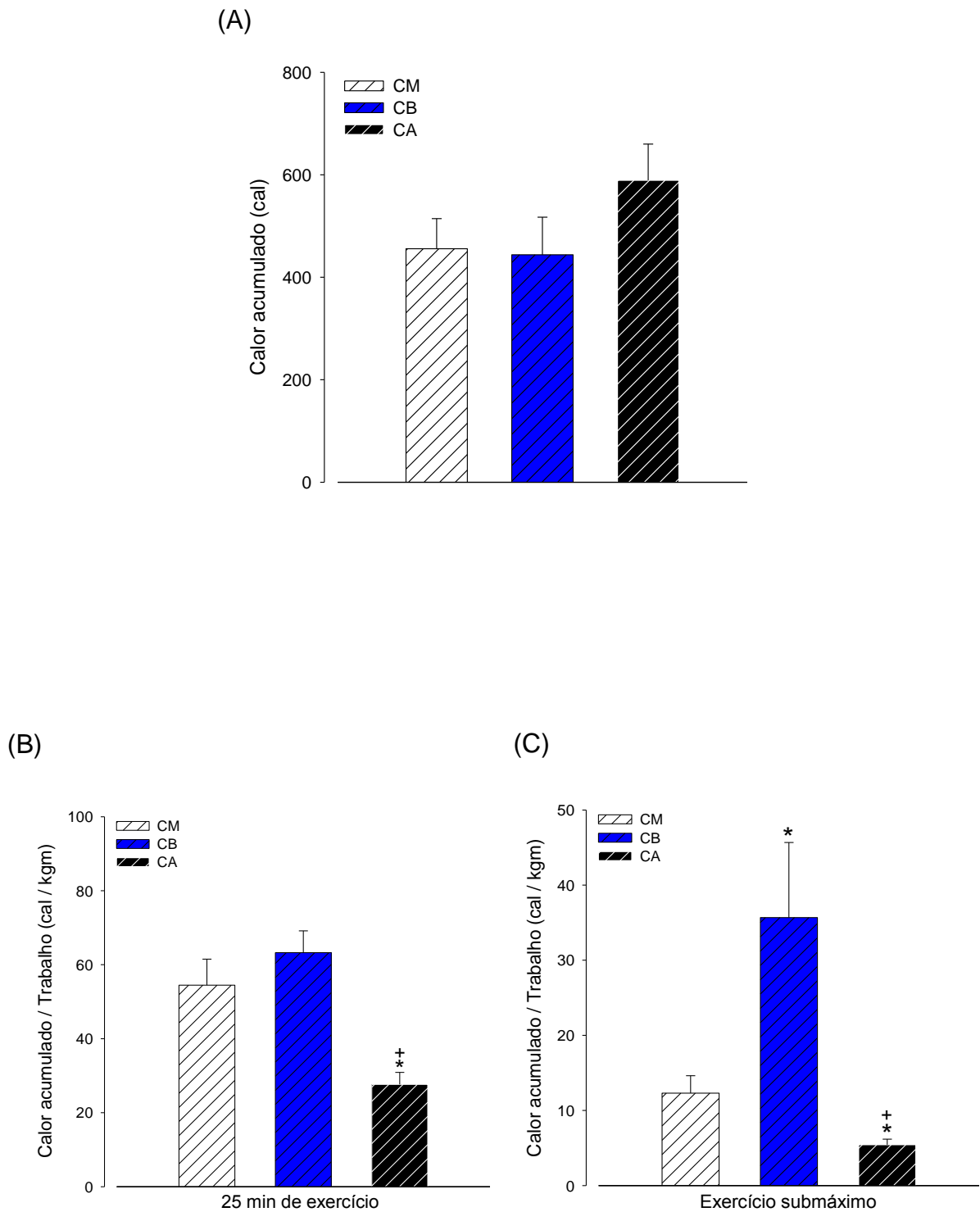


GRÁFICO 17. Dados do calor acumulado durante o exercício submáximo. (A) Calor acumulado total (B) Calor acumulado relativizado pelo trabalho, durante os primeiros 25 min de exercício. (C) Calor acumulado relativizado pelo trabalho, durante todo o exercício. (n = 6 para CB e CA; n = 7 para CM). * diferença em relação à CM, + diferença entre CB e CA. Os dados estão expressos como média \pm EPM.

3.2.4 Variáveis centrais

As análises descritas abaixo representam as concentrações centrais de monoaminas e seus metabólitos nos animais, com diferença na capacidade intrínseca para o exercício, eutanasiados imediatamente após a realização do exercício submáximo.

3.2.4.1 Caudado-putâmen

No CPu, não foram observadas diferenças nas variáveis do sistema dopaminérgico (TAB. 9).

TABELA 9. Dados pós-exercício das variáveis dopaminérgicas e serotoninérgicas no *caudado-putâmen*

<i>Caudado-putâmen</i>	CM	CB	CA	<i>P</i>
DA (pg.µg de proteína ⁻¹)	46,73 ± 8,95	35,33 ± 3,98	35,68 ± 3,75	0,33
DOPAC (pg.µg de proteína ⁻¹)	17,23 ± 2,86	14,54 ± 1,83	15,40 ± 2,57	0,73
DOPAC/DA	0,42 ± 0,08	0,38 ± 0,02	0,42 ± 0,05	0,83

CM (n = 8); CB (n = 7); CA (n = 8). Os dados estão expressos como média ± EPM.

Já em relação ao sistema serotoninérgico, nota-se que no momento da interrupção do esforço, a razão 5-HIAA/5-HT, indicativo da *turnover* serotoninérgico, foi maior nos animais de CA quando comparados àqueles com CM e CB (CM: $1,63 \pm 0,14$; CB: $1,33 \pm 0,07$; CA: $2,96 \pm 0,65$; $P = 0,04$ para CA vs. CM e $P = 0,03$ para CA vs. CB). (GRAF. 18).

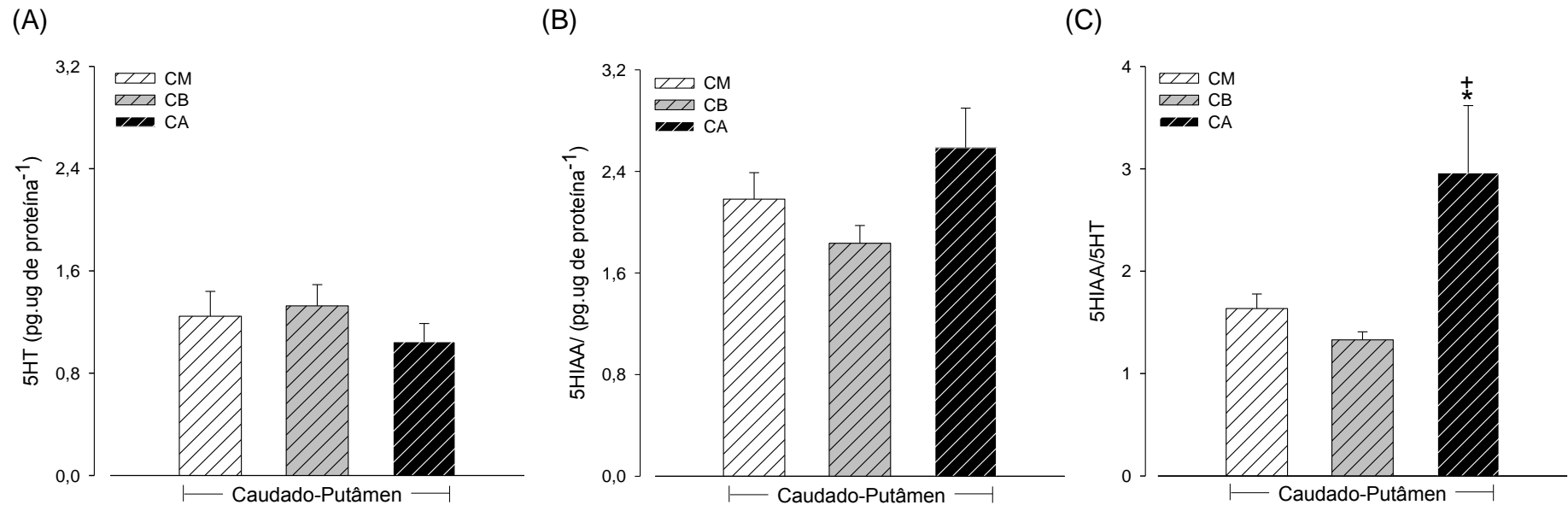


GRÁFICO 18. Dados pós-exercício das variáveis serotoninérgicas no CPu. (A) Concentração de 5-HT - CM (n = 7): $1,25 \pm 0,19$; CB (n = 7): $1,33 \pm 0,17$; CA (n = 8): $1,05 \pm 0,14$ pg.ug de proteína⁻¹; $P = 0,47$. (B) Concentração de 5-HIAA - CM (n = 7): $2,18 \pm 0,21$; CB (n = 7): $1,83 \pm 0,14$; CA (n = 8): $2,59 \pm 0,31$ pg.ug de proteína⁻¹; $P = 0,09$. (C) Razão 5-HIAA/5-HT - CM: n = 7; CB: n = 7; CA: n = 8. * diferença em relação a CM. † diferença entre CB e CA. Os dados estão expressos como média ± EPM.

3.2.4.2 Núcleo accumbens

No Acc, a realização do exercício não resultou em diferenças nas variáveis analisadas do sistema dopaminérgico (TAB. 10).

TABELA 10. Dados pós-exercício das variáveis dopaminérgicas e serotoninérgicas no núcleo *accumbens*

Núcleo <i>accumbens</i>	CM	CB	CA	P
DA (pg.µg de proteína ⁻¹)	33,11 ± 4,14	32,71 ± 4,16	35,80 ± 3,35	0,83
DOPAC (pg.µg de proteína ⁻¹)	29,09 ± 3,49	33,62 ± 4,10	33,81 ± 3,94	0,61
DOPAC/DA (pg.µg de proteína ⁻¹)	0,94 ± 0,12	0,93 ± 0,11	1,06 ± 0,13	0,71

CM (n = 8); CB (n = 7); CA (n = 8). Os dados estão expressos como média ± EPM.

Entretanto, evidenciou-se correlação entre o *turnover* dopaminérgico no Acc e o TE, nos animais de CA (GRAF. 19).

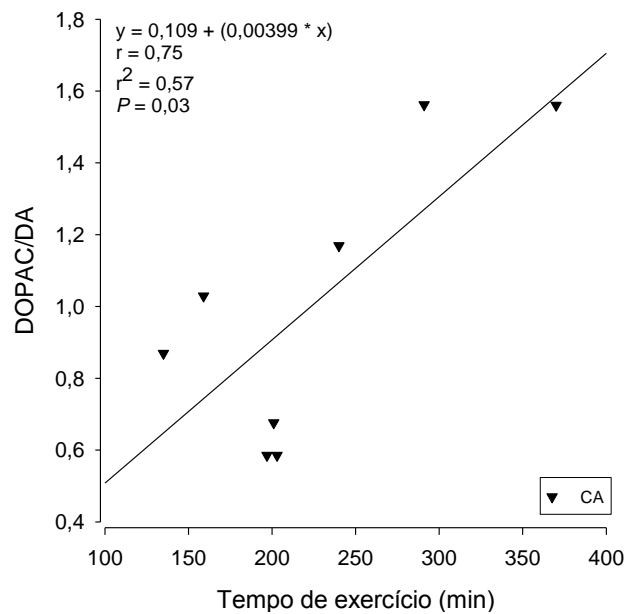


GRÁFICO 19. Correlação entre a razão DOPAC/DA no Acc e o TE nos animais de CA.

O turnover serotoninérgico foi maior nos animais de CA em relação aos de CM e CB (CM: $2,79 \pm 0,28$ vs. CB: $2,15 \pm 0,21$ vs. CA: $4,23 \pm 0,43$; $P = 0,005$ para CA vs. CM e $P < 0,001$ para CA vs. CB) (GRAF. 20).

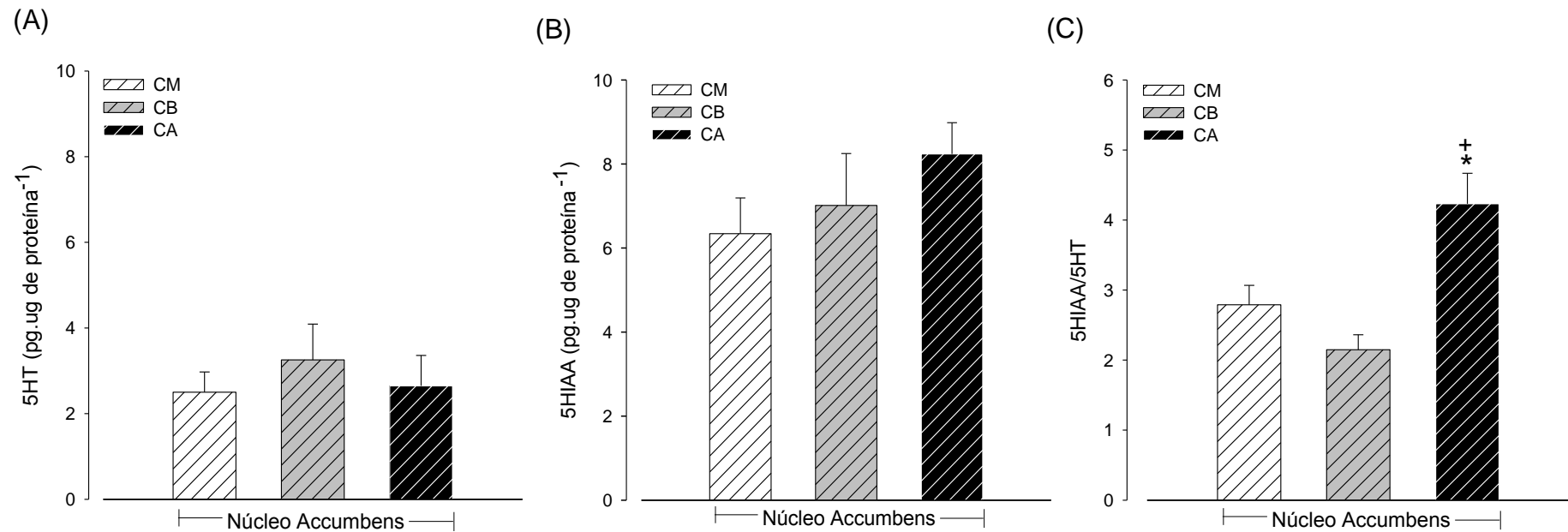


GRÁFICO 20. Dados pós-exercício das variáveis serotoninérgicas no Acc. (A) Concentração de 5-HT - CM (n = 8): $2,50 \pm 0,47$; CB (n = 7): $3,25 \pm 0,84$; CA (n = 8): $2,65 \pm 0,71$ pg.ug de proteína⁻¹; $P = 0,71$. (B) Concentração de 5-HIAA - CM (n = 8): $6,34 \pm 0,85$; CB: $7,01 \pm 1,23$; (n = 7); CA (n = 8): $8,24 \pm 0,74$ pg.ug de proteína⁻¹; $P = 0,09$. (C) Razão 5-HIAA/5-HT - CM: n = 8; CB: n = 7; CA: n = 8. * diferença em relação a CM. + diferença entre CB e CA. Os dados estão expressos como média ± EPM.

3.2.4.3 Hipocampo

Após a realização do exercício submáximo, a concentração de DA, no HC, foi menor nos animais de CB quando comparados com os de CM e CA (CM: $2,15 \pm 0,15$ vs. CB: $1,49 \pm 0,16$ vs. CA: $2,08 \pm 0,15$ pg.µg de proteína⁻¹; $P = 0,01$ para ambas as comparações) (GRAF. 21).

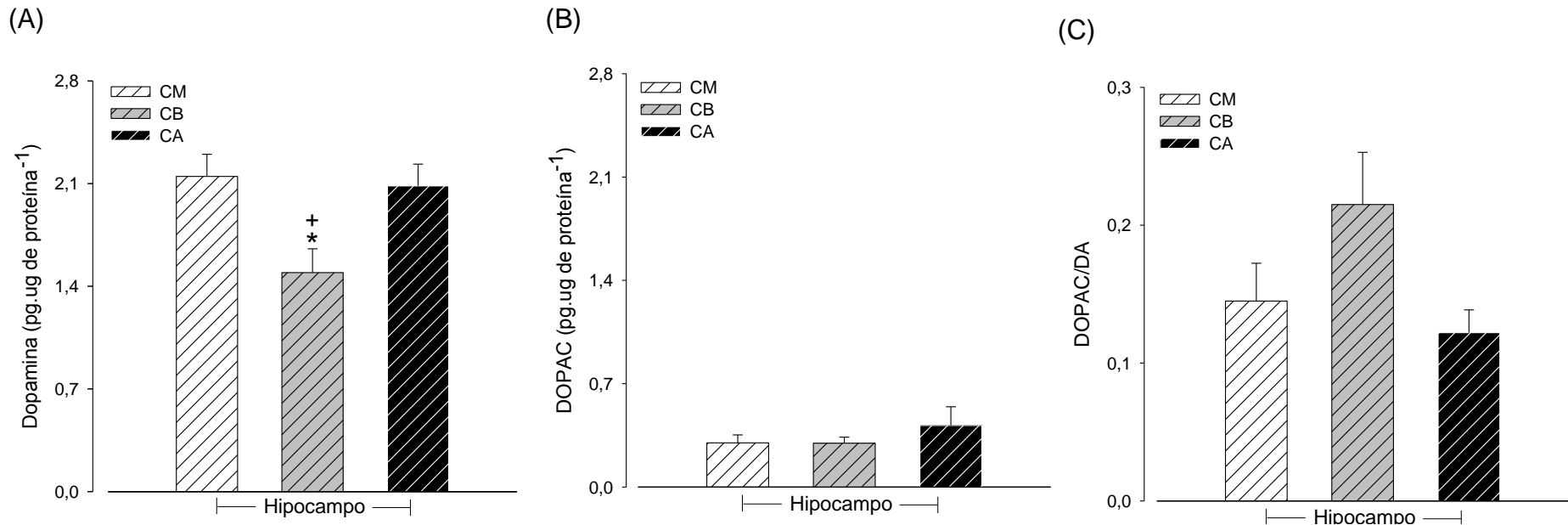


GRAFICO 21. Dados pós-exercício das variáveis dopaminérgicas no HC. (A) Concentração de DA - CM (n = 8); CB (n = 8); CA (n = 8). (B) Concentração de DOPAC - CM (n = 8): $0,30 \pm 0,05$; CB (n = 8): $0,30 \pm 0,04$; CA (n = 8): $0,42 \pm 0,13$ pg.µg de proteína⁻¹; $P = 0,53$. (C) Razão DOPAC/DA - CM (n = 8): $0,14 \pm 0,03$; CB (n = 8): $0,21 \pm 0,04$; CA (n = 8): $0,12 \pm 0,02$; $P = 0,07$. * diferença em relação à CM, + diferença entre CB e CA. Os dados estão expressos como média ± EPM.

Como demonstrado na TAB. 11, as concentrações de 5-HT, 5-HIAA e a razão 5-HIAA/5-HT, não diferiram entre os grupos experimentais em resposta ao exercício submáximo.

TABELA 11. Dados pós-exercício das variáveis serotoninérgicas no hipocampo

Hipocampo	CM	CB	CA	<i>P</i>
5-HT (pg.µg de proteína ⁻¹)	0,77 ± 0,13	1,09 ± 0,22	0,62 ± 0,04	0,12
5-HIAA (pg.µg de proteína ⁻¹)	5,09 ± 0,33	4,65 ± 0,46	5,32 ± 0,29	0,43
5-HIAA/5-HT	7,60 ± 0,97	5,42 ± 1,05	8,12 ± 0,62	0,10

(n = 8 para cada grupo). Os dados estão expressos como média ± EPM.

3.2.4.4 Hipotálamo

No HP, o exercício desencadeou maior concentração de DOPAC nos animais de CA em relação aqueles de CM e CB (TAB. 12).

TABELA 12. Dados pós-exercício das variáveis dopaminérgicas e serotoninérgicas no hipotálamo

Hipotálamo	CM	CB	CA	<i>P</i>
DA (pg.µg de proteína ⁻¹)	5,70 ± 0,54	4,60 ± 0,54	5,45 ± 0,26	0,25
DOPAC (pg.µg de proteína ⁻¹)	2,14 ± 0,18	2,01 ± 0,13	2,68 ± 0,21 * †	0,04
DOPAC/DA	0,39 ± 0,03;	0,46 ± 0,02	0,49 ± 0,02	0,08
5-HT (pg.µg de proteína ⁻¹)	8,23 ± 1,08	6,95 ± 0,97	7,10 ± 0,54	0,56
5-HIAA (pg.µg de proteína ⁻¹)	6,12 ± 0,56	5,54 ± 0,62	5,94 ± 0,53	0,76
5-HIAA/5-HT	0,83 ± 0,11	0,76 ± 0,06	0,85 ± 0,08	0,76

CM (n = 8); CB (n = 7); CA (n = 7). * diferença em relação à CM, † diferença entre CB e CA. Os dados estão expressos como média ± EPM.

3.2.4.5 Área pré-óptica

Após a realização do exercício, a concentração de DA, na APO, foi maior nos animais de CA quando comparados aos animais de CB (CM: $21,93 \pm 3,56$; CB: $16,24 \pm 4,29$; CA: $39,99 \pm 9,72$ pg.µg de proteína⁻¹; $P = 0,03$) (GRAF. 22).

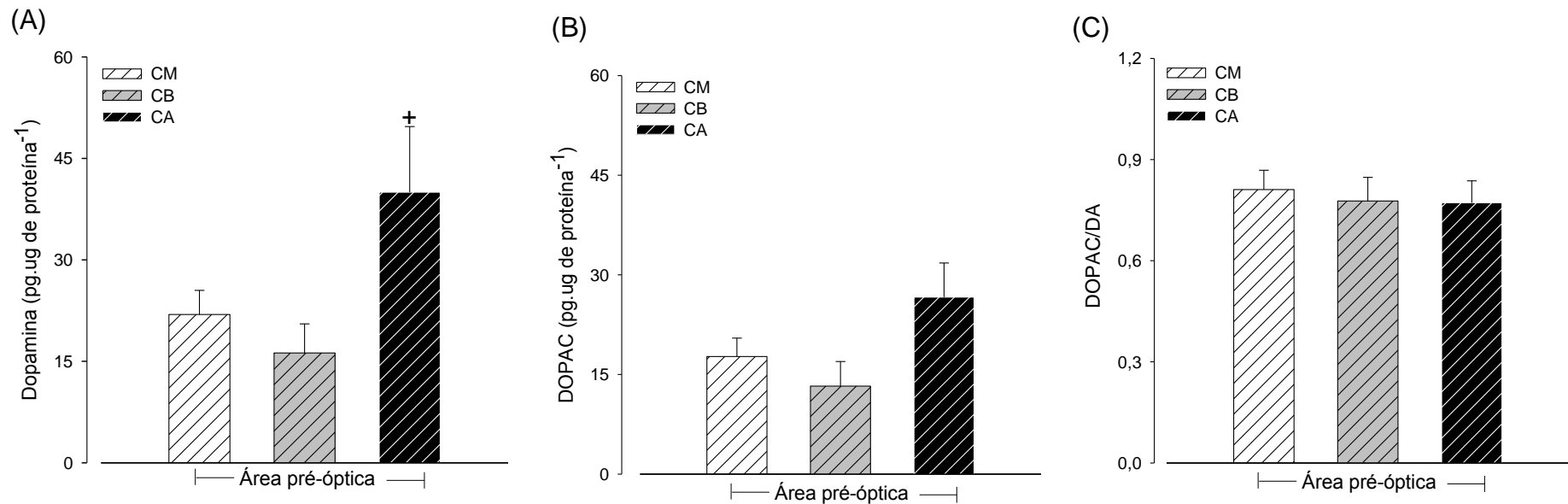


GRÁFICO 22. Dados pós-exercício das variáveis dopaminérgicas na APO. (A) Concentração de DA - CM: n = 7; CB: n = 8; CA: n = 7. (B) Concentração de DOPAC - CM (n = 7): $17,70 \pm 2,77$; CB (n = 7): $13,25 \pm 3,71$; CA (n = 8): $26,64 \pm 5,15$ pg.µg de proteína⁻¹ ($P = 0,07$). (C) Razão DOPAC/DA - CM (n = 7): $0,81 \pm 0,06$; CB (n = 7): $0,78 \pm 0,07$; CA (n = 7): $0,77 \pm 0,06$ ($P = 0,89$). + diferença entre CB e CA. Os dados estão expressos como média ± EPM.

Conforme apresentado no GRAF. 23, a realização do exercício submáximo resultou em maiores concentrações de 5-HT, na APO, nos animais de CA em relação aos de CM e CB (CA: $5,02 \pm 1,44$; CM: $2,80 \pm 0,53$; CB: $1,63 \pm 0,44$ pg.ug de proteína⁻¹; $P = 0,04$ para CA vs. CM e $P = 0,01$ para CA vs. CB). Nessa área, também foi identificado maior concentração de 5-HIAA nos animais de CA quando comparados aos de CB (CA: $6,63 \pm 1,46$; CM: $4,39 \pm 0,70$; CB: $1,96 \pm 0,46$; pg.ug de proteína⁻¹; $P = 0,009$ para CA vs. CB).

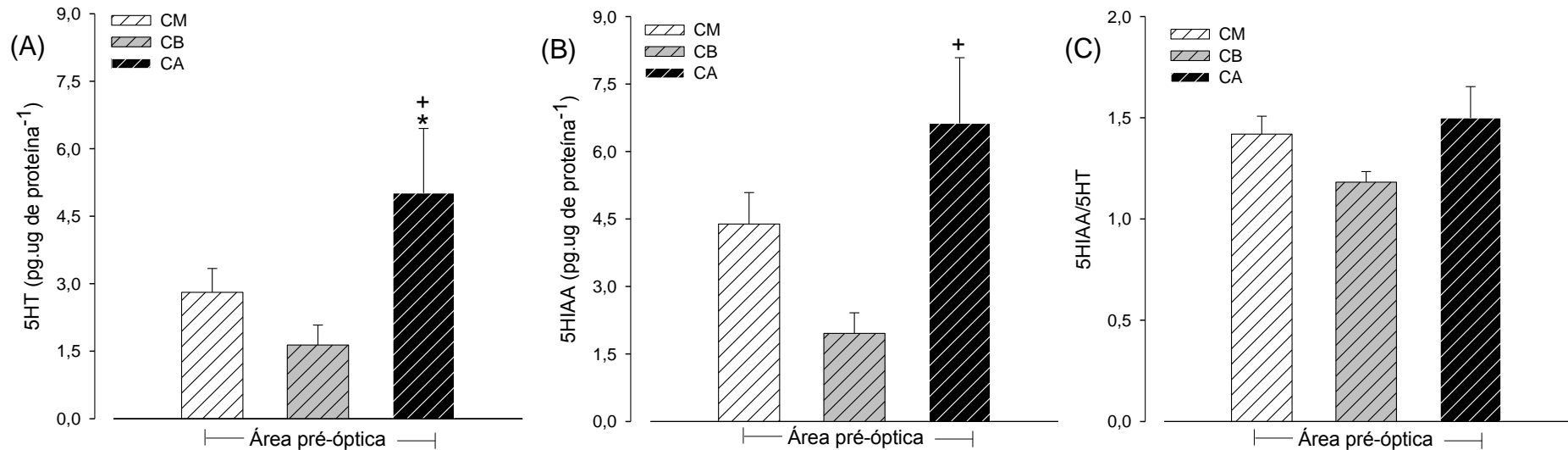


GRÁFICO 23. Dados pós-exercício das variáveis serotoninérgicas na APO. (A) Concentração de 5-HT - CM: n = 7; CB: n = 8; CA n = 7. (B) Concentração de 5HIAA - CM: n = 7; CB: n = 7; CA: n = 7. (C) Razão 5-HIAA/5-HT - CM (n = 7): $1,42 \pm 0,09$; CB (n = 7): $1,18 \pm 0,05$; CA (n = 7): $1,50 \pm 0,15$; $P = 0,15$. * diferença em relação a CM. + diferença entre CB e CA. Os dados estão expressos como média \pm EPM.

Complementando os resultados anteriores, observou-se correlação entre a concentração de DA na APO (GRAF. 24) e o valor de temperatura interna final e entre a concentração de DA e o TE alcançado pelos animais no exercício submáximo (GRAF. 25).

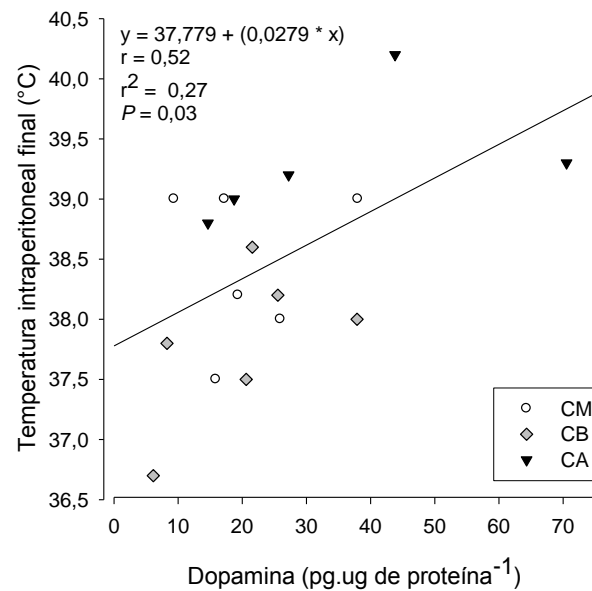


GRÁFICO 24. Correlação entre a concentração de DA na APO pós-exercício e a Ti final.

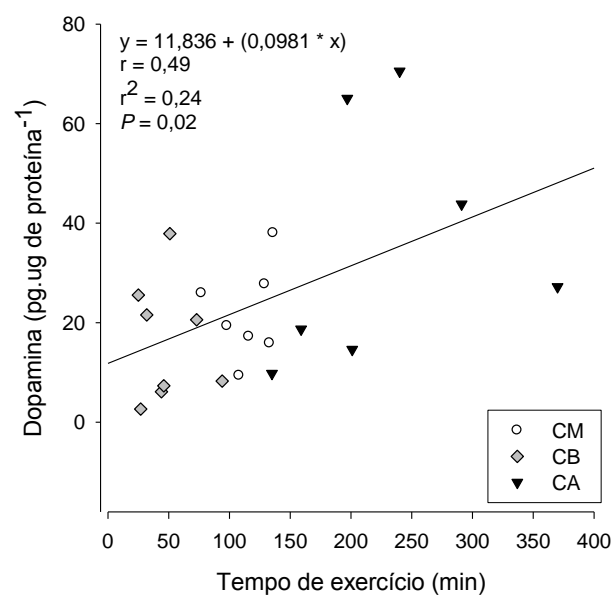


GRÁFICO 25. Correlação entre o TE e a concentração de DA na APO pós-exercício.

5.2.5 Comparações do turnover dopaminérgico e serotoninérgico entre as situações: basal e exercício submáximo

Os gráficos abaixo apresentam as comparações da situação pós-exercício submáximo em relação à situação basal. Observou-se que o *turnover* dopaminérgico aumentou no CPu (GRAF. 26A) e diminuiu no HP (GRAF. 29) para todos os grupos experimentais. Já o *turnover* serotoninérgico aumentou no CPu (GRAF. 26B), APO (GRAF. 28) e HC (GRAF. 30) para os três grupos experimentais, em relação aos valores basais. No Acc, entretanto, houve aumento da razão 5-HIAA/5-HT apenas nos animais de CM e CA após o exercício (GRAF. 27). No HP, foi observada diminuição do *turnover* serotoninérgico nos três grupos experimentais (GRAF. 29B).

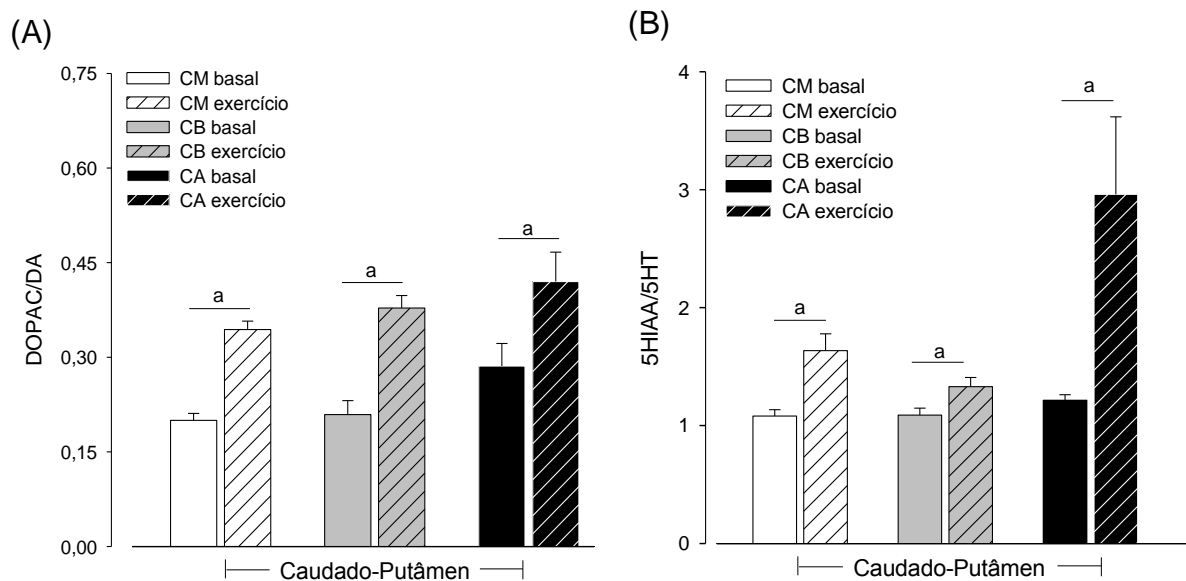


GRAFICO 26. Comparações no CPu entre as situações: basal e exercício. (A) Comparações do *turnover* dopaminérgico (CM: $P < 0,001$; CB: $P < 0,001$; CA: $P < 0,001$). (B) Comparações do *turnover* serotoninérgico (CM: $P = 0,01$; CB: $P = 0,03$; CA: $P = 0,002$). ^a indica diferença entre as situações experimentais. Os dados estão expressos como média \pm EPM.

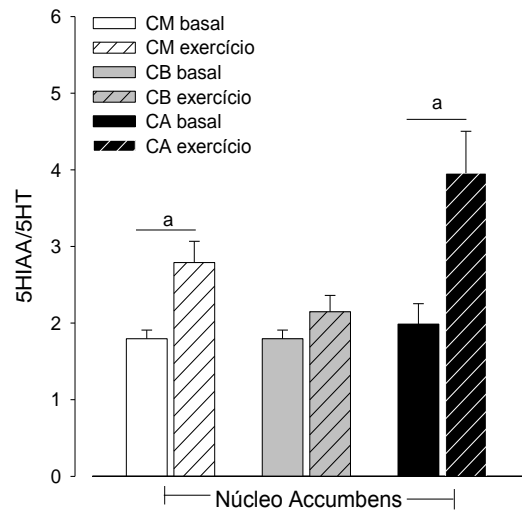


GRAFICO 27. Comparações no Acc do *turnover* serotoninérgico entre as situações: basal e exercício (CM: $P = 0,005$; CB: $P = 0,16$; CA: $P = 0,007$). ^a indica diferença entre as situações experimentais. Os dados estão expressos como média \pm EPM.

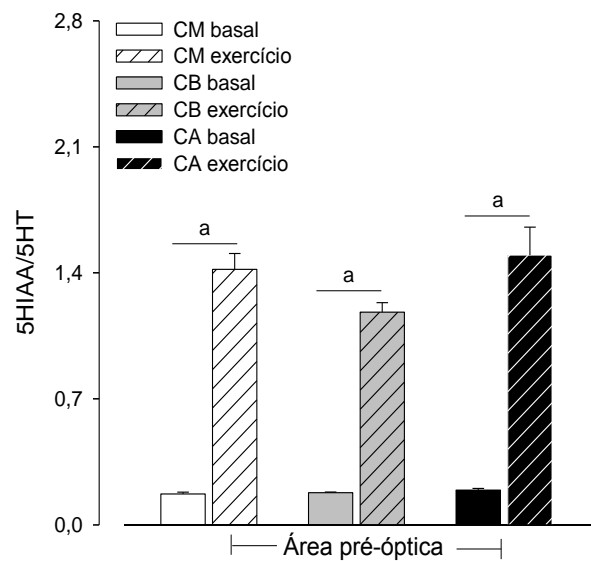


GRAFICO 28. Comparações na APO do *turnover* serotoninérgico entre as situações: basal e exercício (CM: $P < 0,001$; CB: $P < 0,001$; CA: $P < 0,001$). ^a indica diferença entre as situações experimentais. Os dados estão expressos como média \pm EPM.

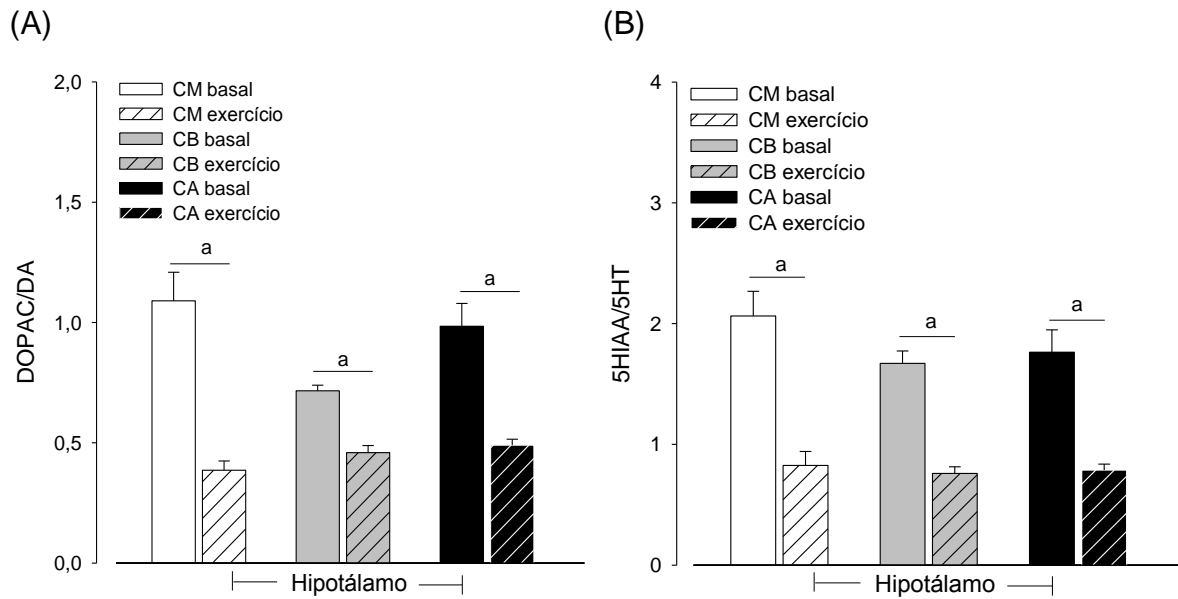


GRAFICO 29. Comparações no HP entre as situações: basal e exercício. (A) Comparações do *turnover* dopaminérgico (CM: $P < 0,001$; CB: $P < 0,001$; CA: $P < 0,001$). (B) Comparações do *turnover* serotoninérgico (CM: $P < 0,001$; CB: $P < 0,001$; CA: $P < 0,001$). ^a indica diferença entre as situações experimentais. Os dados estão expressos como média \pm EPM.

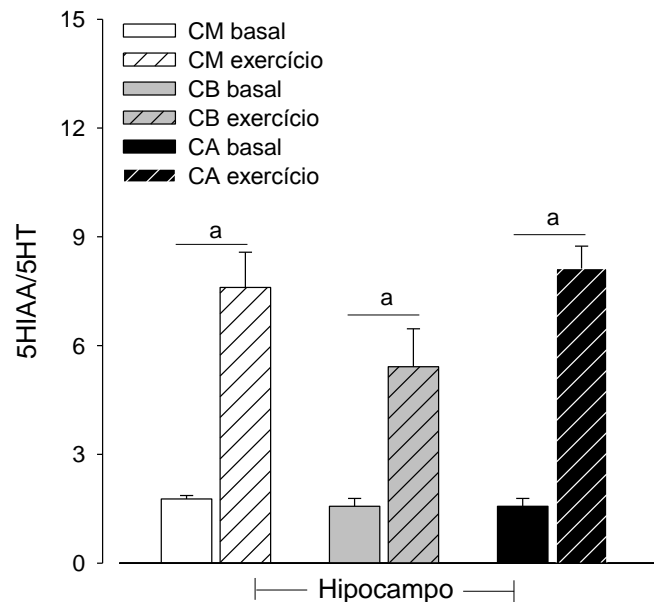


GRAFICO 30. Comparações do *turnover* serotoninérgico no HC entre as situações: basal e exercício (CM: $P < 0,001$; CB: $P < 0,001$; CA: $P < 0,001$). ^a indica diferença entre as situações experimentais. Os dados estão expressos como média \pm EPM.

TABELA 13. Resumo dos principais resultados

Área cerebral	Comparações entre os grupos		Comparações entre as situações: basal e exercício		
	Basal	Exercício submáximo	CB	CM	CA
<u>CPu</u>	DOPAC/DA: CA > CM e CB	5-HIAA/5-HT: CA > CM e CB	DOPAC/DA: E > B	DOPAC/DA: E > B	DOPAC/DA: E > B
	5-HT: CA < CM e CB		5-HIAA/5-HT: E > B	5-HIAA/5-HT: E > B	5-HIAA/5-HT: E > B
	5-HIAA: CA < CB				
	5-HT/DA: CA < CM e CB				
	<i>Correlação + DOPAC/DA e TE</i>				
	<i>Correlação - 5-HT e TE</i>				
	<i>Correlação + 5-HT/DA e TE</i>				
<u>Acc</u>	<i>Correlação + DA e TE no CA</i>	5-HIAA/5-HT: CA > CM e CB		5-HIAA/5-HT: E > B	5-HIAA/5-HT: E > B
	<i>Correlação + DOPAC e TE no CA</i>	<i>Correlação + DOPAC/DA e TE no CA</i>			

Legenda: CM: capacidade-média; CB: capacidade-baixa; CA: capacidade-alta.

E: exercício; B: basal.

Área cerebral	Comparações entre os grupos		Comparações entre as situações: basal e exercício		
	Basal	Exercício submáximo	CB	CM	CA
<u>HC</u>	5-HIAA: CB > CM e CA 5-HIAA/5-HT: CB > CA	DA: CB < CM e CA	5-HIAA/5-HT: E > B	5-HIAA/5-HT: E > B	5-HIAA/5-HT: E > B
<u>HP</u>	5-HIAA: CA < CB	DOPAC: CA > CM e CB	DOPAC/DA: E < B 5-HIAA/5-HT: E < B	DOPAC/DA: E < B 5-HIAA/5-HT: E < B	DOPAC/DA: E < B 5-HIAA/5-HT: E < B
<u>APO</u>	DA: CA > CM e CB	DA: CA > CB 5HT: CA > CM e CB 5-HIAA: CA > CB <i>Correlação + DA e TE</i> <i>Correlação + DA e Ti</i>	5-HIAA/5-HT: E > B	5-HIAA/5-HT: E > B	5-HIAA/5-HT: E > B

Legenda: CM: capacidade-média; CB: capacidade-baixa; CA: capacidade-alta.

E: exercício; B: basal.

4 DISCUSSÃO

O principal achado desta pesquisa foi que animais não manipulados geneticamente e que possuem diferenças na capacidade intrínseca para o exercício, manifestam, de forma sítio-dependente, diferenças nos sistemas dopaminérgico e serotoninérgico. Essas alterações podem estar associadas à capacidade intrínseca para o exercício.

Os animais de CA apresentaram maior *turnover* serotoninérgico após a realização do exercício. Isso pode ser decorrente das alterações encontradas nas variáveis dopaminérgicas no estado basal, nesses animais, dentre as quais se destaca o maior *turnover* dopaminérgico na área associada ao controle motor – CPu. Além disso, nos ratos de CA foram evidenciados maiores valores de DA na APO, o que pode ter contribuído para as respostas termorregulatórias, dentre elas, uma maior temperatura interna final observada nesse grupo durante o exercício. Esse resultado está de acordo com dados prévios do nosso grupo de pesquisa. Balthazar e colaboradores (2009) mostraram que a injeção *i.c.v.* de DA faz com que os animais prolonguem o TE e interrompam o esforço com maiores valores de temperatura interna.

Para a realização do experimento, os animais foram separados em função do TE_{max} obtido entre os três testes de esforço progressivo. Esse critério foi adotado para atenuar a interferência ambiental, que pode influenciar de forma negativa o desempenho (KOCH e BRITTON, 2001). Ao utilizar, como referência, o TE_{max} dos animais de CM (100%), o desempenho nos testes de esforço progressivo dos grupos CB e CA foram, respectivamente, 42,9% e 161,7% para o primeiro experimento e 66,9% e 178,4% para o segundo experimento. Esses percentuais foram reproduzidos de forma similar quando os ratos realizaram o exercício a 60% da V_{max} (CB: 44,8% e CA 199,2% em relação ao grupo de CM).

A partir da clássica correlação positiva entre a velocidade de corrida e o consumo máximo de oxigênio, descrita na literatura (HODAY *et al.*, 2007; BROOKS e WHITE, 1978), inferimos que os valores de VO_{2max} também seriam diferentes entre os grupos. Apesar dos animais apresentarem TE distintos durante a realização do exercício com a mesma intensidade relativa, contradizendo a literatura (MCARDLE,

KATCH e KATCH; 2003), a responsividade do eixo HPA ao exercício foi semelhante entre eles, indicando que o esforço significou um mesmo grau de estresse para esses animais, confirmando resultados anteriormente encontrados (GIRARD e GARLAND JR, 2001; DUCLOS *et al.*, 1997; COLEMAN *et al.*, 1998).

De acordo com achados prévios, animais que apresentam baixa capacidade inata para a corrida, resultante de um processo de seleção artificial divergente, possuem hipertriglicemia e hiperglicemia (SPARGO *et al.*, 2007), que, associados a outras alterações metabólicas, repercutem em um quadro de síndrome metabólica (BUCK *et al.*, 2007). No presente estudo não houve diferenças nas concentrações de glicose e triacilglicerol séricos no estado basal. Portanto, sugere-se que, apesar das discrepâncias no desempenho, os animais utilizados no trabalho não apresentaram alterações patológicas no metabolismo energético. Após o exercício submáximo, apesar da diminuição observada na concentração de triacilglicerol nos animais de CM e CA em comparação ao basal, não foram evidenciadas diferenças entre os grupos. Assim, por não ter ocorrido nenhuma anormalidade nas concentrações dessas variáveis, em quaisquer grupos ou situações experimentais, entendemos que os ajustes fisiológicos foram suficientes para promover a disponibilização adequada de substratos energéticos. Corroborando dados anteriores da literatura (BAILEY *et al.*, 1993), inferimos que, nas condições experimentais utilizadas nesta pesquisa, a disponibilidade de substratos não foi um fator limitante para o desempenho.

Na análise dos 210 animais, 68,1% foram classificados como CM, 14,3% como CB e 17,6% como CA. Esses percentuais são similares àqueles obtidos por Prímola-Gomes e colaboradores (2009) que encontraram uma incidência de 66,60% dos animais como CM, 13,4% como CB e 20% como CA (PRÍMOLA-GOMES *et al.*, 2009). Ao efetuar o cálculo da maior distância total percorrida nos testes de esforço progressivo de todos os animais utilizados nos experimentos 1 e 2, os valores encontrados foram $251,4 \pm 25,7$ m para o grupo CB e $1348,9 \pm 41,9$ m para o grupo CA (APÊNDICE B). Esses dados assemelham-se aos que foram identificados nos animais manipulados geneticamente da 17ª geração (LCR: 200 ± 12 m vs. HCR: 1514 ± 91 m) (THYFAULT *et al.*, 2009). A partir das evidências de que os genes associados à capacidade intrínseca são distintos daqueles relacionados à adaptabilidade ao exercício (HENDERSON *et al.*, 2002; LAMBERT *et al.*, 1996), e

considerando o princípio da treinabilidade (MCARDLE, KATCH e KATCH; 2003), é esperado que os animais de CB sejam mais propensos a aumentarem o TE em função de um protocolo de treinamento. No entanto, investigações futuras são necessárias para a elucidação dessa hipótese.

O comportamento motor, dentre os quais destacamos o exercício físico, vem sendo investigado através da análise da atividade voluntária na roda, do exercício na esteira, da atividade locomotora na caixa ou a desenvolvida no próprio *habitat* natural (HUSAK *et al.*, 2006; MASSET *et al.*, 2005; LERMAN *et al.*, 2002; GARLAND, 1999; FRIEDMAN *et al.*, 1992). Estudiosos têm observado que nas análises intra (FRIEDMAN *et al.*, 1992) e interlinhagens (MASSET *et al.*, 2005; LERMAN *et al.*, 2002) não há correlação entre a AR e o tempo de corrida na esteira. No entanto, em camundongos manipulados geneticamente, o desempenho na esteira prediz a AR (MEEK *et al.*, 2009; SWALLOW *et al.*, 1998). Além disso, o desempenho obtido na esteira correlaciona-se positivamente com a distância percorrida no campo (GARLAND, 1999), podendo influenciar outros comportamentos do animal, determinando, por exemplo, a escolha do *habitat* pela espécie (CLEMENTE *et al.*, 2009). Também tem sido observada correlação entre a velocidade máxima de corrida gerada em uma situação de fuga e a taxa de sobrevivência dos animais na natureza (HUSAK *et al.*, 2006). Complementando tais resultados, Burghardt e colaboradores (2011) encontraram que ratos HCR possuem maior comportamento defensivo e de vigilância quando submetidos a um estresse de predador e desenvolvem maior aprendizagem contextual em função de um estímulo nocivo (BURGHARDT *et al.*, 2011). Nota-se, portanto, que a capacidade intrínseca para o exercício está associada à adoção de comportamentos e à adaptabilidade dos animais a determinados ambientes. A complexidade dessa interação, analisada dentro de uma perspectiva evolutiva, não nos permite, entretanto, determinar qual seria a relação de causa e efeito. Contudo, sabe-se que, ao longo do processo evolutivo, o exercício tornou-se um comportamento motivado, assim como outros essenciais à sobrevivência, tais como: reprodução e alimentação (KNAB e LIGHTFOOT, 2010; SZCZYPKA *et al.*, 2001). Desse modo, é plausível sugerir que a variabilidade encontrada neste estudo, na análise intralinhagem, está associada a diferentes padrões comportamentais que, provavelmente, podem se manifestar tanto na natureza quanto nos testes laboratoriais.

Para a análise das variáveis centrais foram escolhidas cinco áreas cerebrais que recebem projeções serotonérgicas e dopaminérgicas, e que estão atreladas às modulações que influenciam o desempenho físico: CPu – controle motor (FOLEY *et al.*, 2008), Acc – motivação (KNAB e LIGHTFOOT, 2010); HC – controle motor, memória motora, controle do eixo HPA (DINAN, 1996; CHAOULOFF *et al.*, 1995); HP – regulação hormonal e respostas autonômicas (BEN-JONATHAN e HNASKO, 2001; DINAN, 1996); APO – controle termorregulatório (ROMANOVSKY, 2007). Em cada estrutura foram analisadas as concentrações de 5-HT e DA – para expressar a capacidade de síntese, e as concentrações dos metabólitos – como indicadores da atividade do sistema. O *turnover*, calculado a partir da razão metabólito/neurotransmissor, foi utilizado como indicativo da atividade em função da capacidade de síntese (KULIKOV *et al.*, 2012; BROWNE *et al.*, 2011; SCHOLL *et al.*, 2010). Ressalta-se que os resultados encontrados neste estudo apresentam estimativas da atividade dos sistemas investigados, já que, a técnica utilizada não permite a distinção entre os níveis de monoaminas presentes na fenda sináptica daqueles contidos no espaço intraneuronal. Entretanto, a análise por CLAE possibilitou a quantificação dos neurotransmissores e seus metabólitos em diversas regiões cerebrais utilizando o mesmo animal (SCHOLL *et al.*, 2010; BALTHAZAR *et al.*, 2010).

O *turnover* serotonérgico, em relação ao basal, aumentou após o exercício no CPu, APO e HC de todos os animais. Já no Acc houve aumento apenas nos animais de CM e CA. Nas áreas CPu e Acc, a razão 5-HIAA/5-HT foi maior no grupo de CA relativamente aos outros grupos experimentais. Como demonstrado em estudos anteriores, o metabolismo serotonérgico é proporcional à intensidade (VEASEY *et al.*, 1995) e tempo de exercício (MEEUSEN *et al.*, 1996), o que está condizente com os nossos resultados. Em conjunto, esses dados apontam para a ideia de que as modulações na atividade serotonérgica são consequência das características da atividade realizada.

Apesar de todos os animais terem corrido até o momento da interrupção do esforço, a ausência do aumento de 5-HIAA/5-HT no Acc dos animais de CB pode ter ocorrido devido a uma especificidade da área. Supomos que seja necessário um maior TE para que, nesse grupo, ocorra tal alteração. Resultados prévios obtidos no nosso

laboratório – que complementam a argumentação exposta – mostram que as modulações no metabolismo monoaminérgico, em função do exercício, ocorrem de forma sítio-dependente (BALTHAZAR *et al.*, 2009; SOARES *et al.*, 2007), assim como as adaptações observadas nesses sistemas em função do treinamento (CHENNAOUI *et al.*, 2001; DEY *et al.*, 1992). Outra hipótese, é que os animais de CB possuam menor sensibilidade da via entre a ATV e Acc, o que pode repercutir em menor motivação para o exercício. O *turnover* dopaminérgico aumentou com o exercício, para todos os grupos experimentais, apenas no CPu, o que também pode denotar uma especificidade desta área, já que esta é vinculada ao controle motor (KRAVITZ e KREITZER, 2012; GERFEN e SURMEIER, 2011; FOLEY *et al.*, 2008; PETZINGER *et al.*, 2007) e portanto, pode ser a única região na qual a razão DOPAC/DA se mantém elevada até o final do exercício.

No modelo proposto por nosso laboratório, a fadiga é um processo decorrente da integração central de informações provenientes das múltiplas aferências, o que desencadeia modulações nas eferências neurais, com o intuito de permitir a realização da tarefa de forma econômica e garantir a possibilidade do organismo de retornar a homeostasia. Quando essas informações sinalizam que o custo para continuar a tarefa sobrepõe-se aos benefícios que essa pode oferecer, ocorre, como mecanismo de proteção, uma diminuição da motivação e uma redução da intensidade ou interrupção do esforço (RODRIGUES e SILAMI-GARCIA, 1998). A maior atividade do sistema serotoninérgico parece ser uma dessas sinalizações que participam da integração neural (SOARES *et al.*, 2007; DAVIS e BAILEY, 1997; BAILEY *et al.*, 1993). O fato de o grupo CA apresentar maior *turnover* serotoninérgico, em áreas associadas à motivação e controle motor após a corrida, demonstra que esses animais suportaram uma maior atividade desse sistema até que o momento em que isso tenha sido interpretado como uma das sinalizações, às quais integradas às demais informações aferentes, tornou-se suficiente para gerar a interrupção do exercício. A maior tolerância ao aumento da atividade do sistema serotoninérgico pode ter sido possibilitada pelas alterações monoaminérgicas observadas no estado basal, o que tornaria os animais mais propensos à locomoção. Um resultado, que aponta nesse sentido, é o maior *turnover* dopaminérgico no CPu observado no grupo de CA. O CPu recebe projeções de áreas corticais com eferências para outras estruturas dos gânglios da base, formando a via direta e indireta de controle do

movimento. A DA age em ambas as vias através de receptores D1 e D2, modulando o CPU e, conseqüentemente, desencadeando o ajuste fino do controle motor (HASHEMI *et al.*, 2012; KRAVITZ e KREITZER, 2012; FOLEY *et al.*, 2008), o que explica a relação entre exercício e a DA estriatal. Essa relação foi reforçada, neste estudo, pela correlação positiva encontrada entre a razão DOPAC/DA basal e o TE_{max} ($r = 0,50$) na análise de todos os animais agrupados. O CPU também participa da modulação motivacional. Em estudo recente, Kravitz e Kreitzer (2012) argumentam que as vias direta e indireta de controle do movimento estão vinculadas, respectivamente, ao reforço positivo e negativo, o que explica as sensações hedônicas que acompanham a realização do exercício. Nessa linha de pensamento, é, portanto, tentador sugerir que os animais de CA possuam um maior reforço positivo para o exercício, o que aumenta a incidência desse comportamento.

Knab e Lightfoot (2010) discutem sobre a participação dopaminérgica como variável dependente e independente no desempenho físico (KNAB e LIGHTFOOT, 2010). Ao avaliar o papel dessa monoamina como variável independente, nota-se que a modulação farmacológica do sistema dopaminérgico, antes de um exercício físico, influencia o desempenho. Os fármacos que mimetizam o efeito da DA aumentam o tempo de corrida (BALTHAZAR *et al.*, 2009; HASEGAWA *et al.*, 2008; ROELANDS *et al.*, 2008b), já os que bloqueiam a via dopaminérgica resultam em efeitos contrários (BALTHAZAR *et al.*, 2010). Em ratos manipulados geneticamente para apresentarem alta atividade na roda, há, no estado basal, maiores concentrações de DA nas áreas CPU e Acc (MATHES *et al.*, 2010). Nesse trabalho, tal estado foi denominado de hiperdopaminergia. Já em ratos HCR, que possuem alto desempenho na esteira, os resultados são inconclusivos, sendo encontrado nesses animais tanto aumento da expressão do autorreceptor inibitório, quanto do receptor pós-sináptico dopaminérgico (FOLEY *et al.*, 2006). Dessa maneira, observam-se adaptações que resultam em efeitos antagônicos nesse sistema, já que a primeira tende a restringir e a segunda tende a aumentar a atividade dopaminérgica. Entre linhagens de camundongos, também têm sido observadas diferenças nessa monoamina, o que se reflete no comportamento motor. Em determinada linhagem na qual é evidenciado maior número de neurônios de DA na SN com concomitante aumento da atividade da TH e taxa de síntese dopaminérgica, o que está acompanhado de maior atividade locomotora livre e comportamento exploratório

(FINK e REIS, 1981; SVED *et al.*, 1984). Esses animais também manifestam menor sensibilidade serotoninérgica a estímulos estressores agudos (BROWNE *et al.*, 2011), o que pode estar vinculado tanto a uma relação de causa quanto de consequência das alterações dopaminérgicas. As alterações citadas anteriormente apontam para um aumento da atividade do sistema dopaminérgico nas estruturas estriatais, o que pode ter desencadeado as alterações observadas no comportamento motor. Contudo, até o presente momento, nenhum estudo havia investigado essas relações utilizando animais pertencentes a uma mesma linhagem. Os achados do presente trabalho condizem com os citados anteriormente, de que a atividade dopaminérgica predispõe para a realização do ato motor, dentre os quais destacamos o exercício na esteira. Especula-se que em função do maior *turnover* dopaminérgico estriatal, os animais de CA também apresentem uma predisposição para manifestarem uma alta quantidade de atividade na roda em relação aos CB, entretanto são necessárias futuras investigações para testar essa hipótese. O aumento do *turnover* dopaminérgico no CPu pode ter decorrido de uma menor inibição serotoninérgica (BAILEY *et al.*, 1993) já que, nos animais de CA foi encontrado menor concentração de 5-HT em relação ao grupo CM e CB, e menor concentração de 5-HIAA comparado ao CB. Fortalecendo a argumentação exposta, também foi observado menor relação 5-HT/DA nos ratos de CA em relação aos outros grupos experimentais. Na análise de todos os animais agrupados, essa variável correlacionou-se negativamente com o TE_{max} ($r = -0,44$), assim como 5-HT e TE_{max} ($r = -0,54$).

O Acc faz parte da via mesocorticolímbica que tem sido descrita como a principal via envolvida na motivação para o exercício. Estudos demonstram que a estimulação dessa estrutura cerebral gera aumento nos níveis de atividade locomotora espontânea (KIYATKIN, 2008; DREHER e JACKSON, 1989). Além disso, tem-se observado uma preferência por local associado ao acesso à roda (GREENWOOD *et al.*, 2011). Relacionando tais resultados com os provenientes deste experimento, podemos sugerir que os animais de CA possuem maior sensibilidade dopaminérgica no Acc, o que, associado ao maior *turnover* dopaminérgico no CPu, pode influenciar a motivação para o exercício (KNAB e LIGHTFOOT, 2010; WERME *et al.*, 2002; WERME *et al.*, 2000). No grupo de CA, identificou-se forte correlação entre as concentrações basais de DA ($r = 0,73$) e DOPAC ($r = 0,86$), no Acc, com o TE_{max} ,

além de forte correlação entre a razão DOPAC/DA no Acc, pós-exercício, e o TE ($r = 0,75$). Nossos dados contradizem os de Mathes e colaboradores (2010), que encontraram em animais HR, correlação negativa entre a quantidade de atividade na roda e as concentrações basais de DA e DOPAC no Acc. A discrepância entre as evidências pode ser em função da utilização de animais manipulados ou não geneticamente, já que no estudo de Mathes, os animais apresentaram outras alterações no sistema dopaminérgico, como diminuição da expressão de D1 e D2 (MATHES *et al.*, 2010). Recentemente, Roberts e colaboradores (2012) também investigaram a sensibilidade do sistema dopaminérgico no Acc em ratos, manipulados para apresentarem alta atividade na roda, comparados àqueles com baixo nível. Foi observada alteração no padrão de comportamento motor, em resposta à administração de fármacos dopaminérgicos no Acc, apenas nos animais com altos níveis de atividade. De acordo com os autores, esses resultados apontam para diferenças na atividade da via entre os grupos experimentais analisados (ROBERTS *et al.*, 2012). Assim, através da interpretação dos dados encontrados e embasados nos resultados da literatura, sugerimos que a relação entre a capacidade intrínseca para o exercício e a via entre a ATV e o Acc que modula a motivação, seja mais sensível nos animais de CA.

No HC dos animais de CB, no estado basal, foi encontrada maior concentração de 5-HIAA em relação à CM e CA, e maior razão 5-HIAA/5-HT em comparação à CA. Esses resultados parecem estar de acordo com a indicação de que a redução da atividade serotoninérgica nessa área, decorrente do treinamento, é um dos fatores associados ao aumento do desempenho (DEY *et al.*, 1992). Dados presentes na literatura demonstram que o HC modula o comportamento motor através da geração de um padrão de disparo neuronal denominado atividade rítmica lenta (*rhythmical slow activity* - RSA) (PECK e VANDERWOLF, 1991; VANDERWOLF, 1989; BLAND e VANDERWOLF, 1972). Existem duas formas de RSA distintas, sendo uma modulada por projeções serotoninérgicas, e a outra, por projeções colinérgicas. Além disso, a RSA gerada pela 5-HT inibe a RSA colinérgica (PECK e VANDERWOLF, 1991; VANDERWOLF *et al.*; 1989). Alterações no equilíbrio entre essas duas vias resultam em mudanças comportamentais, dentre as quais se destaca o padrão de atividade na roda. A lesão de neurônios serotoninérgicos hipocâmpais desencadeia aumento na quantidade de atividade realizada na roda no período diurno

(VANDERWOLF, 1989) e aumento da atividade locomotora espontânea (BIDZINSKI *et al.*, 1998). Assim, arriscamos especular que o aumento serotoninérgico observado nos animais de CB esteja associado a um desequilíbrio na RSA, o que pode contribuir para o *déficit* de desempenho desse grupo.

Considerando a inibição recíproca entre os sistemas investigados (DAVIS e BAILEY, 1997; BAILEY *et al.*, 1993), a menor concentração de DA hipocampal, observada após o exercício, nos animais de CB em relação aos outros grupos experimentais, pode ter provindo de uma maior inibição serotoninérgica basal. A resposta dopaminérgica observada nesse grupo aponta para uma menor capacidade plástica nessa área, tendo em vista os estudos que mostram que a plasticidade em resposta ao exercício, depende da estimulação dopaminérgica proveniente da ATV (ROSSATO *et al.*, 2009; LEMON *et al.*, 2006). A DA aumenta a liberação do fator neurotrófico derivado do cérebro (*brain-derived neurotrophic factor* – BDNF) e resulta em ativação de potencial de longo prazo (ROSSATO *et al.*, 2009; RHODES *et al.*, 2003; SWANSON-PARK *et al.*, 1999), mecanismos associados à neurogênese hipocampal.

Os valores basais de 5-HIAA e do *turnover* serotoninérgico, nos ratos de CB, podem indicar uma predisposição para hiper-reatividade ao estresse nesses animais, baseada na relação de ativação do eixo HPA pela 5-HT hipocampal (CHAOULOFF *et al.*, 1995). Com isso, esperava-se que esses animais apresentassem maiores concentrações de corticosterona – hormônio cuja resposta a diferentes agentes estressores é conhecida (MASTORAKOS, 2005; SOARES *et al.*; 2003a) –, o que não foi observado em nenhuma das situações experimentais. Todavia, é possível que o grupo de CB possua maior sensibilidade a outros tipos de estresse que não seja o exercício, já que, conforme demonstrado pela literatura, há linhagens de ratos que apresentam alterações na sensibilidade para tipos específicos de agentes estressores (BURGHARDT *et al.*, 2011; WATERS *et al.*, 2010; MARTIN *et al.*, 2000).

No HP, a diminuição das razões 5-HIAA/5-HT e DOPAC/DA em todos os grupos, com o exercício, foi uma resposta oposta aquelas observadas nas outras estruturas cerebrais. Bailey e colaboradores (1993) encontraram, no momento da interrupção do esforço, aumento de 5-HT sem alteração no 5-HIAA. Apesar dos autores não

apresentarem o cálculo do *turnover*, é possível que tenha ocorrido diminuição do mesmo. Já no sistema dopaminérgico, observou-se um aumento da concentração de DA e DOPAC na interrupção do esforço (BAILEY *et al.*, 1993). Para os dados encontrados no presente estudo, argumenta-se que o exercício tenha desencadeado, no HP, aumento na síntese dos neurotransmissores. Em relação à DA, essa resposta pode ter decorrido do aumento de Ca^{++} central (BEN-JONATHAN e HNASKO, 2001; AKIYAMA e SUTOO, 1999). Já o aumento de 5-HT pode ter sido ocasionado pelo aumento na porção de TRP livre (MEEUSEN *et al.*, 2006; DAVIS *et al.*, 2000; MEEUSEN e MEIRLEIR, 1995; DAVIS e BAILEY, 1997). Entretanto, a intensidade de exercício utilizada parece não ter representado um estímulo capaz de aumentar a degradação desses neurotransmissores. Isso pode indicar que o aumento da atividade hipotalâmica desses neurotransmissores ocorra, com o exercício, apenas quando o mesmo é realizado em intensidades mais elevadas. Resultados que condizem com a alegação exposta anteriormente foram encontrados por Soya e colaboradores (2007). Esses autores observaram em ratos não treinados e submetidos a exercício de 15 e 25 m.min⁻¹, que apenas na maior intensidade foi desencadeado um aumento do número de neurônios positivos para *c-fos* no HP (SOYA *et al.*, 2007). Ressaltamos que cautela deve ser dada à interpretação de tal resultado, que necessita de maior suporte experimental para gerar proposições conclusivas a esse respeito.

Complementando a análise dos achados encontrados no HP, os animais de CB apresentaram, no estado basal, maior concentração de 5-HIAA e, no pós-exercício, houve maior concentração de DA no grupo de CA. Os dados apontam para possíveis diferenças nas modulações das vias hipotalâmicas entre os grupos experimentais. Entretanto, considerando a complexidade da regulação de várias funções fisiológicas desencadeadas por cada núcleo do HP (GUIMARÃES *et al.*, 2011; WANNER *et al.*, 2010; SATOH *et al.*, 1997), os dados apresentados não permitem aprofundar na sua interpretação. Compreendemos isso como uma limitação do estudo e destacamos a necessidade de investigações complementares baseados nesses indícios.

4.1 Monoaminas e termorregulação

Através da relação entre monoaminas e temperatura – estabelecida em artigos da área de nosso grupo e de outros autores (COIMBRA *et al.*, 2010; HASEGAWA *et al.*, 2008; SOARES *et al.*, 2007; MEEUSEN *et al.*, 2006; GISOLFI *et al.*, 1980), e na concepção de que a sobrecarga térmica possa ser um dos fatores que contribui para a interrupção do esforço físico prolongado (HARGREAVES, 2008; SOARES *et al.*, 2007; 2004; CHEUNG e SLEIVERT, 2004; RODRIGUES *et al.*, 2003) – foi investigada a relação entre as monoaminas e a termorregulação nos animais selecionados. Neste trabalho, a relação entre a temperatura e o desempenho evidencia-se na correlação obtida entre T_i final e o TE ($r = 0,64$). Os animais de CA apresentaram maiores concentrações de DA na APO em ambas as situações experimentais. A concentração de DA, pós-exercício submáximo, correlacionou-se com o TE ($r = 0,49$) e a temperatura interna final ($r = 0,52$), que foi maior nos animais de CA. Esses resultados assemelham-se aos observados por Hasegawa e colaboradores (2008), que observaram correlação positiva entre a temperatura interna e o delta da concentração de DA na APO ($r = 0,62$). Todavia, no estudo de Hasegawa e colaboradores (2008), os animais foram submetidos a manipulações farmacológicas, ao passo que, e no presente estudo essa relação foi evidenciada independente do uso de fármacos ou treinamento prévio.

Os maiores valores de DA nos animais de CA podem ter alterado a percepção de esforço decorrente do aumento da T_i , o que permitiu aos ratos prolongarem o TE. Essa argumentação vai ao encontro de estudos prévios da literatura, nos quais a utilização de fármacos para a modulação do sistema dopaminérgico gerou um efeito ergogênico (BALTHAZAR *et al.*, 2009; HASEGAWA *et al.*, 2008; ROELANDS *et al.*, 2008b; WATSON *et al.*, 2005). Em relação à temperatura da cauda, principal mecanismo de dissipação de calor em roedores durante o exercício, observou-se que seu valor final foi menor nos animais de CB em relação aos de CM e CA. Esse achado pode ter sido encontrado em função do curto TE, que não foi suficiente para permitir a vasodilatação máxima da cauda. Trabalhos do nosso laboratório, realizados em condições experimentais semelhantes, demonstraram que a temperatura da cauda começa a aumentar entre o 4° e 14° min de exercício (CORDEIRO *et al.*, 2012; WANNER *et al.*, 2010; PIRES *et al.*, 2010). No grupo de

CB esse aumento foi observado, a partir do 15° min, sendo que alguns animais obtiveram TE inferiores a 30 min.

Ao longo dos primeiros 25 min de exercício, não foram encontradas diferenças na temperatura intraperitoneal e da cauda, entre os grupos. Porém, ressalta-se que os animais realizaram o exercício em velocidades distintas, com diferenças na produção de trabalho e calor. Assim, reestruturamos a argumentação e apresentamos a seguinte afirmação: a temperatura intraperitoneal não diferiu entre os grupos, apesar da intensidade absoluta do exercício ser diferente entre os mesmos (CA > CM > CB). Com o intuito de auxiliar na interpretação dos dados, realizou-se a análise do calor acumulado relativizado pelo trabalho realizado. Assim, nos primeiros 25 min de exercício, o calor acumulado relativizado pelo trabalho foi menor nos animais de CA em comparação aos outros grupos experimentais. O calor acumulado relativizado pelo trabalho total realizado também foi maior no grupo de CB em relação aos de CM e CA e menor no grupo de CA em comparação ao de CM. Isso sugere uma maior e menor eficiência mecânica (EM) nos ratos de CA e CB, respectivamente, durante a realização do exercício submáximo. Dessa forma, a hipótese de discrepância na EM entre os grupos justifica os resultados encontrados: diferença na quantidade de trabalho realizado com respostas semelhantes nos mecanismos de dissipação de calor e com a mesma quantidade de calor acumulado. A maior EM, no grupo de CA, pode ter sido parcialmente decorrente do maior *turnover* dopaminérgico basal no CPu – área vinculada ao controle motor (HASHEMI *et al.*, 2012; KRAVITZ e KREITZER, 2012; FOLEY *et al.*, 2008), já que, resultados anteriores demonstraram que a injeção de DA *i.c.v.* minimiza a perda de EM ao longo do exercício progressivo (BALTHAZAR *et al.*, 2009).

Os animais de CA apresentaram maiores valores de 5-HT e 5-HIAA na APO após o exercício, o que se assemelha aos resultados observados no CPu e Acc nesse mesmo grupo experimental. Assim, conforme citado anteriormente, esse resultado pode ter sido decorrente do maior TE e da maior velocidade na qual ele foi realizado (VEASEY *et al.*, 1995; MEEUSEN *et al.*, 1996).

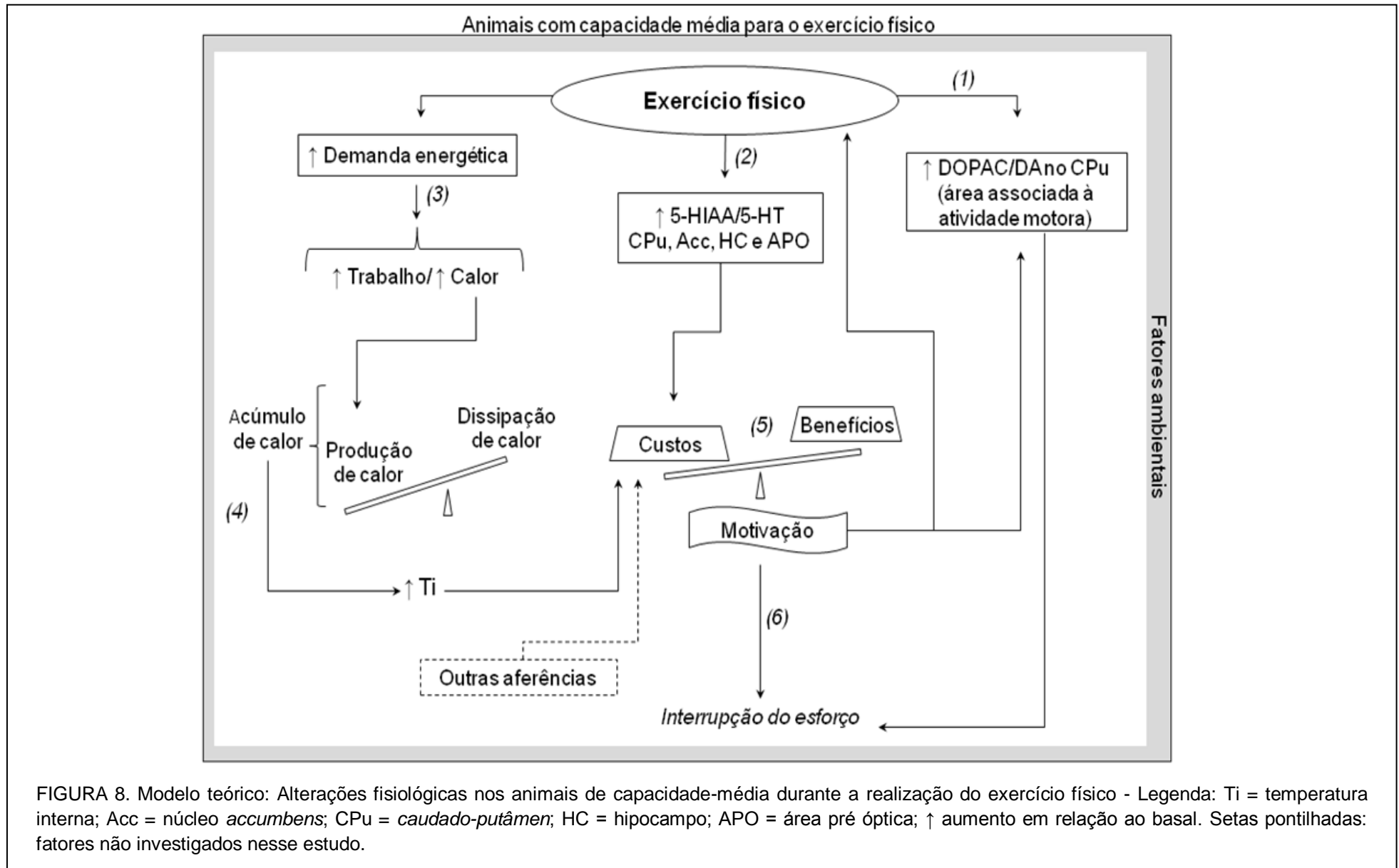
Baseados nos resultados encontrados neste trabalho, propomos um modelo teórico hipotético para explicar os principais achados entre os grupos experimentais que

podem estar envolvidos na capacidade intrínseca para o exercício físico (FIG. 8, 9 e 10).

Na FIG. 8 é possível observar as respostas, ao exercício físico submáximo, encontradas, neste experimento, nos animais de CM, que representam o grupo controle. (1) O exercício desencadeou aumento do *turnover* dopaminérgico no CPu, o que pode estar associado à função dessa estrutura – controle motor. (2) No CPu, Acc, HC e APO foi identificado aumento do *turnover* serotoninérgico. (3) Além disso, em função da maior geração de energia para aumentar a produção de trabalho, houve, concomitantemente, um aumento da produção de calor que foi maior que a capacidade de dissipação pela cauda. (4) Como resultado, houve aumento do acúmulo de calor e, conseqüentemente, aumento da temperatura interna. (5) Essas alterações, durante todo o exercício, ao serem integradas a outras aferências, resultaram em um cálculo dinâmico entre os custos e os benefícios para continuar o esforço. (6) Quando os custos suplantaram os benefícios, ocorreu, a diminuição da motivação e, em função do mecanismo de proteção da fadiga, houve interrupção do exercício.

Na FIG. 9 estão demonstradas as alterações basais observadas nos animais de CA, as quais parecem estar associadas à capacidade intrínseca para o exercício. (1) A partir da interpretação das correlações encontradas entre as variáveis dopaminérgicas no Acc e o TE, especulamos que esses animais tenham apresentado maior sensibilidade da via entre a ATV e o Acc, (2) fato que, associado ao maior *turnover* dopaminérgico basal no CPu, modulou o cálculo entre os custos e benefícios, aumentando a motivação para a corrida. (3) Isso fez com que esses animais suportassem um maior *turnover* serotoninérgico em áreas cerebrais. (4) O aumento basal do *turnover* dopaminérgico também pode ter resultado em maior EM no grupo de CA, o que levou ao aumento da relação entre trabalho realizado e calor acumulado. (5) Além disso, o aumento da concentração basal de DA, na APO, permitiu aos animais alcançarem maiores valores de temperatura interna final. (6) Sugerimos que todos esses mecanismos estejam vinculados ao maior desempenho observado nesse grupo.

Na FIG. 10 estão expostas as alterações basais identificadas nos animais de CB, o que pode estar vinculado à capacidade inata desse grupo para o exercício. (1) Especula-se que, nesses animais, em função do aumento da atividade serotoninérgica hipocampal, tenham ocorrido alterações na geração da atividade rítmica lenta nessa estrutura, o que, durante o exercício, resultou em menor EM (2) e que repercutiu em uma menor relação entre o trabalho realizado e o acúmulo de calor. (3) Insinuamos que essas alterações possam estar associadas ao baixo desempenho visto nesse grupo.



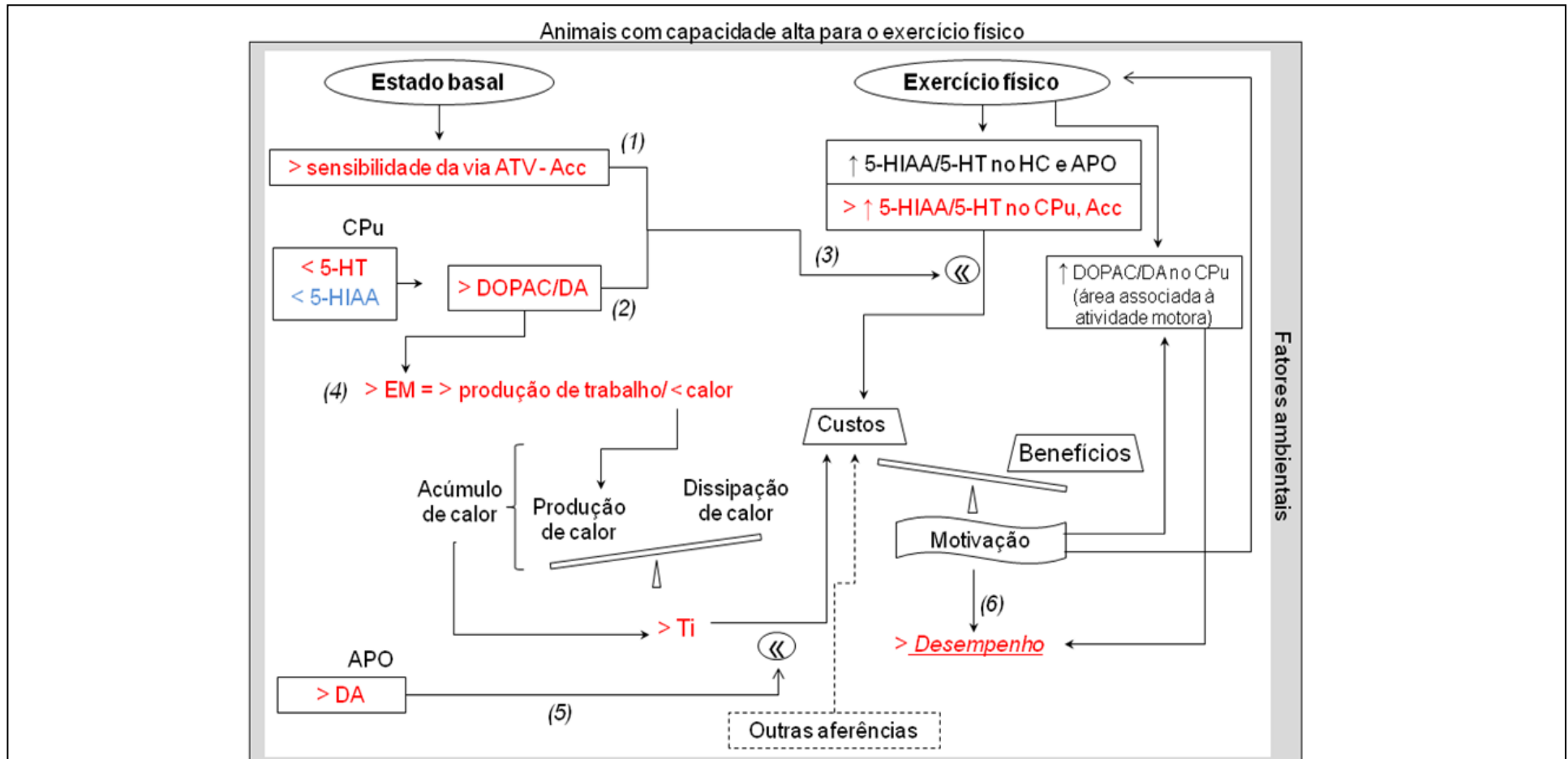


FIGURA 9. Modelo teórico: Alterações fisiológicas nos animais de CA - Legenda: EM = eficiência mecânica; Ti = temperatura interna; ATV: área tegmentar ventral; Acc = núcleo *accumbens*; CPu = *caudado-putâmero*; HC = hipocampo; APO = área pré óptica; > maior em relação à CM e CB (cor vermelha); < menor em relação à CM e CB (cor vermelha); < menor em relação à CB (cor azul); ↑ aumento em relação ao basal; setas pontilhadas: fatores não

investigados nesse estudo; ⌞ atenuação da sinalização.

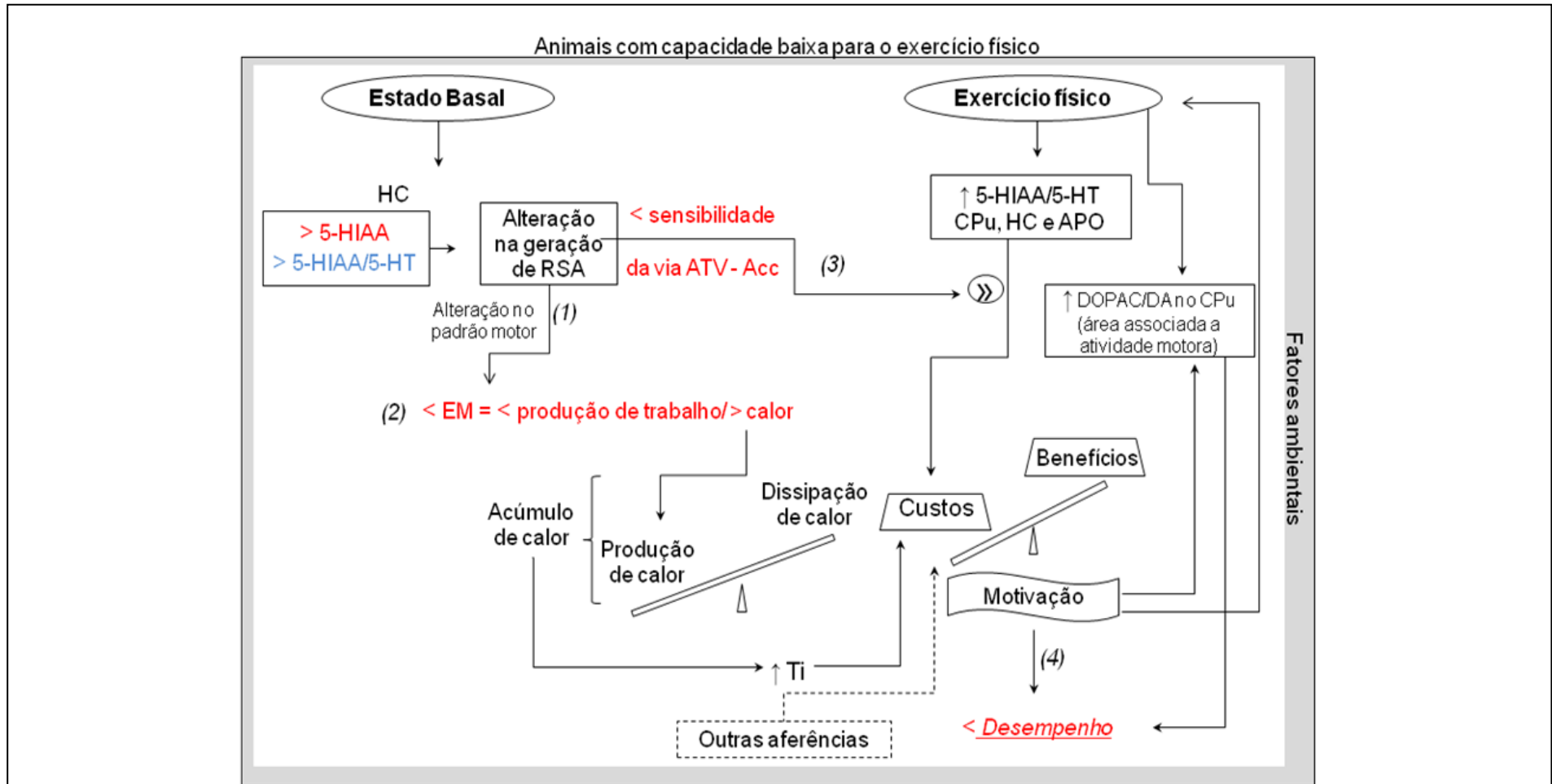


FIGURA 10. Modelo teórico: Alterações fisiológicas nos animais de CB - Legenda: EM = eficiência mecânica; Ti = temperatura interna; ATV: área tegmentar ventral; Acc = núcleo *accumbens*; CPU = *caudado-putâmen*; HC = hipocampo; APO = área pré óptica; < menor em relação à CM e CA (cor vermelha); > maior em relação à CM e CA; (cor vermelha) > em relação à CA (cor azul); ↑ aumento em relação ao basal; ↓ diminuição em relação ao basal; setas pontilhadas: fatores não investigados nesse estudo; >>> aumento da sinalização; RSA: atividade rítmica lenta.

4.2 Conclusão

A partir dos resultados observados no experimento 1, concluímos que a capacidade intrínseca para o exercício está associada aos sistemas dopaminérgico e serotoninérgico em áreas cerebrais relacionadas ao controle motor, reforço positivo e termorregulação.

No momento da interrupção do esforço, animais que possuem diferenças na capacidade intrínseca para o exercício, apresentam diferenças nos sistemas dopaminérgico e serotoninérgico que se manifestam de forma sítio-dependente.

REFERÊNCIAS

ACWORTH, I. *et al.* Effect os sustained exercise on concentrations of plasma aromatic and branched-chain amino acids and brain amines. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, v. 137, n. 1, p. 149-152, 1986.

ADAMS, J. Understanding exercise dependence. *Journal of Contemporary Psychotherapy*, v. 39, n. 4, p. 231-240, 2009.

ADAMS, J.; KIRKBY, R. J. Excessive exercise as an addiction: a review. *Addiction Research and Theory*, v. 10, n. 5, p. 415-438, 2002.

AIDMAN, E. V.; WOOLLARD, S. The influence of self-reported exercise addiction on acute emotional and physiological responses to brief exercise deprivation. *Psychology of Sport and Exercise*, v. 4, n. 3, p. 225-236, 2003.

AKIYAMA, K.; SUTOO, D. Rectifying effect of exercise on hypertension in spontaneously hypertensive rats via a calcium-dependent dopamine synthesizing system in the brain. *Brain Research*, v. 823, n. 1-2, p. 154-160, 1999.

BADAWY, A. A. B. The functions and regulation of tryptophan pyrrolase. *Life Sciences*, v. 21, n. 6, p. 755-767, 1977.

BAILEY, S. P.; DAVIS, J. M.; AHLBORN, E. N. Neuroendocrine and substrate responses to altered brain 5-HT activity during prolonged exercise to fatigue. *Journal of Applied Physiology*, v. 74, n. 6, p. 3006-3012, 1993.

BALTHAZAR, C. H. *et al.* Effects of blockade of central dopamine D1 and D2 receptor on thermoregulation, metabolic rate and running performance. *Pharmacological Reports*, v. 62, p. 54-61, 2010.

BALTHAZAR, C.H. *et al.* Performance-enhancing and thermoregulatory effects of intracerebroventricular dopamine in running rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, v. 93, n. 4, p. 465-469, 2009.

BELKE, T. W. Running and responding reinforced by the opportunity to run: effect of reinforcer duration. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior*, 67, n. 3, p. 337-351, 1997.

BEN-JONATHAN, N.; HNASKO, R. Dopamine as a prolactin (PRL) inhibitor. *Endocrine Reviews*, v. 22, n. 6, p. 724-763, 2001.

BERGER, M.; GRAY, J. A.; ROTH, B. L. The expanded biology of serotonin. *Annual Review of Medicine*, v. 60, p. 355-366, 2009.

BIDZINSKI, A. *et al.* The effect of serotonin depletion on motor activity habituation, and [³H]muscimol binding in the rat hippocampus. *European Journal of Pharmacology*, v. 353, n. 1, p. 5-12, 1998.

BLAND, B. H.; VANDERWOLF, C. H. Diencephalic and hippocampal mechanisms of motor activity in the rat: effects of posterior hypothalamic stimulation on behavior and hippocampal slow wave activity. *Brain Research*, v. 43, n. 1, p. 67-88, 1972.

BRADFORD, M. M. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Analytical Biochemistry*, v. 72, p. 248-254, 1976.

BRITTON, S. L.; KOCH, L. G. Animal genetic models for complex traits of physical capacity. *Exercise and Sport Reviews*, v. 29, n. 1, p. 7-14, 2001.

BRITTON, S. L.; KOCH, L. G. Animal models of complex diseases: an initial strategy. *Life*, v. 57, n. 9, p. 631-638, 2005.

BROOKS, G. A; WHITE, T. P. Determination of metabolic and heart rate responses of rats to treadmill exercise. *Journal of Applied Physiology*, v. 45, n. 6, p. 1009-1015, 1978.

BROWNE, C. A. *et al.* Differential stress-induced alterations in tryptophan hydroxylase activity and serotonin turnover in two inbred mouse strains. *Neuropharmacology*, v. 60, n. 4, p. 683-691, 2011.

BUCK, B. J. *et al.* Upregulation of GAD65 mRNA in the medulla of the rat model of metabolic syndrome. *Neuroscience Letters*, v. 419, n. 2, p. 178-183, 2007.

BURGHARDT, P. R. *et al.* Risk-assessment and coping strategies segregate with divergent intrinsic aerobic capacity in rats. *Neuropsychopharmacology*, v. 36, p. 390-401, 2011.

CAPERUTO, E. C. *et al.* Effect of endurance training on hypothalamic serotonin concentration and performance. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, v. 36, n. 2, p. 189-191, 2009.

CHAOULOFF, F. Effects of acute physical exercise on central serotonergic systems. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, v. 29, n. 1, p. 58-62, 1997.

CHAOULOFF, F. *et al.* Amphetamine and α -methyl-*p*-tyrosine affect the exercise-induced imbalance between the availability of tryptophan and synthesis of serotonin in the brain of the rat. *Neuropharmacology*, v. 26, n. 8, p. 1099-1106, 1987.

CHAOULOFF, F. Physiopharmacological interactions between stress hormones and central serotonergic systems. *Brain Research Reviews*, v. 18, n. 1, p. 1-32, 1993.

CHAOULOFF, F. Serotonin, stress and corticoids. *Journal of Psychopharmacology*, v. 14, n. 2, p. 139-151, 2000.

CHAOULOFF, F. *et al.* Effects of conditioned running on plasma, liver and brain tryptophan and on brain 5-hydroxytryptamine metabolism of the rats. *British Journal of Pharmacology*, v. 86, p. 33-41, 1985.

CHAOULOFF, F. *et al.* Male Fischer 344 and Lewis rats display differences in locomotor reactivity, but not in anxiety-related behaviours: relationship with the hippocampal serotonergic system. *Brain Research*, v. 693, n. 1-2, p. 169-178, 1995.

CHAOULOFF, F.; LAUDE, D.; ELGHOZI, J. L. Physical exercise: evidence for differential consequences of tryptophan on 5-HT synthesis and metabolism in central serotonergic cell bodies and terminals. *Journal of Neural Transmission*, v. 78, n. 2, p. 121-130, 1989.

CHEN, H. I. *et al.* Long-term compulsive exercise reduces the rewarding efficacy of 3,4-methylenedioxymethamphetamine. *Behavioural Brain Research*, v. 187, n. 1, p. 185-189, 2008.

CHEN, H. *et al.* Treadmill exercise enhances passive avoidance learning in rats: The role of down-regulated serotonin system in the limbic system. *Neurobiology of Learning and Memory*, v. 89, n. 4, p. 489-496, 2008.

CHENNAOUI, M. *et al.* Endurance training effects on 5-HT_{1B} receptors mRNA expression in cerebellum, striatum, frontal cortex and hippocampus of rats. *Neuroscience Letters*, v. 307, n. 1, p. 33-36, 2001.

CHEUNG, S. S.; SLEIVERT, G. G. Multiple triggers for hyperthermic fatigue and exhaustion. *Exercise and Sports Sciences Reviews*, v. 32, n. 3, p. 100-106, 2004

CHRISTIE, B. R. *et al.* Exercising our brains: how physical activity impacts synaptic plasticity in the dentate gyrus. *Neuromolecular Medicine*, v. 10, n. 2, p. 47-58, 2008.

CLEMENTE, C. J.; THOMPSON, G. G.; WHITHERS, P. C. Evolutionary relationships of sprint speed in Australian varanid lizards. *Journal of Zoology*, v. 278, p. 270-280, 2009.

COIMBRA, C. C.; SOARES, D. D.; LEITE, L. H. R. The involvement of brain monoamines in the onset of hyperthermic central fatigue. *An International Perspective on Topics in Sports Medicine and Sport Injury*, p. 275-295, Kenneth R. Zaslav (Editor), ISBN: 978-953-51-0005-8, InTech, In: <http://www.intechopen.com/books>, 534 páginas, 2010.

COLEMAN, M. A. *et al.* Glucocorticoid Response to Forced Exercise in Laboratory House Mice (*Mus domesticus*). *Physiology and behavior*, v. 63, n. 2, p. 279-285, 1998.

CORDEIRO, L. M. S. *et al.* Inhibition of tryptophan hydroxylase abolishes fatigue induced by central tryptophan in exercising rats. *Scandinavian Journal of in Medicine and Science in Sports*, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0838.2012.01464.x>, 2012.

COX, B.; KERWIN, R.; LEE, T. F. Dopamine receptors in the central thermoregulatory pathways of the rat. *The Journal of Physiology*, v. 282, p. 471-483, 1978.
DAMME, R. V.; VANHOOYDONCK, B. Origins of interspecific variation in lizard sprint capacity. *Functional Ecology*, v. 15, n. 2, p. 186-202, 2001.

DAVIS, J. M.; BAILEY, S. P. Possible mechanisms of central nervous system fatigue during exercise. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, v. 29, n. 1, p. 45-47, 1997.

DAVIS, J. M.; ALDERSON, N. L. WELSH, R. S. Serotonin and central nervous system fatigue: nutritional considerations. *The American Journal of Clinical Nutrition*, v. 72, n. 2, p. 573S-578S, 2000.

DEY, S.; SINGH, H.; DEY, P. K. Exercise training: significance of regional alterations in serotonin metabolism of rat brain in relation to antidepressant effect of exercise. *Physiology & Behavior*, v. 52, n. 6, p. 1095-1099, 1992.

DINAN, T. G. Serotonin and the regulation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis function. *Life Science*, v. 58, n. 20, p. 1683-1694, 1996.

DREHER, J. K.; JACKSON, D. M. Role of D1 and D2 dopamine receptors in mediating locomotor activity elicited from the nucleus accumbens of rats. *Brain Research*, v. 487, n. 2, p. 267-277, 1989.

DUCLOS, M. *et al.* Trained versus untrained men: different immediate post-exercise responses of pituitary adrenal axis: a preliminary study. *European Journal of Applied and Occupational Physiology*, v. 75, n. 4; p. 342-350, 1997.

DWYER, D.; BROWNING, J. Endurance training in wistar rats decreases receptor sensitivity to a serotonin agonist. *Acta Physiologica Scandinavica*, v. 170, n. 3, p. 211-216, 2000.

FELDBERG, W.; MYERS, R. D. Changes in temperature produced by micro-injections of amines into the anterior hypothalamus of cats. *The Journal of Physiology*, v. 177, n. 2, p. 239-245, 1965.

FELDBERG, W.; MYERS, R. D. Effects on temperature of amines injected into the cerebral ventricles. A new concept of temperature regulation. *The Journal of Physiology*, v. 173, p. 226-237, 1964.

FELTENSTEIN, M. W.; SEE, R. E. The neurocircuitry of addiction: an overview. *British Journal of Pharmacology*, v. 154, n. 2, p. 261-274, 2008.

FINK, J. S.; REIS, D. J. Genetic variations in midbrain dopamine cell number: parallel with differences in responses to dopaminergic agonists and in naturalistic behaviors mediated by central dopaminergic systems. *Brain Research*, v. 222, n. 2, p. 335-349, 1981.

FISHER, B. E. *et al.* Exercise-induced behavioral recovery and neuroplasticity in the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-lesioned mouse basal ganglia. *Journal of Neuroscience Research*, v. 77, n. 3, p. 378-390, 2004.

FOLEY, T. E.; FLESHNER, M. Neuroplasticity of dopamine circuits after exercise: implications for central fatigue. *Neuromolecular Medicine*, v. 10, n. 2, p. 67-80, 2008.

FOLEY, T. E. *et al.* Elevated central monoamine receptor mRNA in rats bred for high endurance capacity: Implications for central fatigue. *Behavioural Brain Research*, v. 174, n. 1, p. 132-142, 2006.

FONTES-RIBEIRO, C. A. *et al.* May exercise prevent addiction? *Current Neuropharmacology*, v. 9, p. 45-48, 2011.

FREED, C. R.; YAMAMOTO, B. K. Regional brain dopamine metabolism: a marker for the speed, direction, and posture of moving animals. *Science*, v. 229, n. 4708, p. 62-65, 1985.

FRIEDMAN, W. A.; GARLAND JR, T.; DOHM, M. R. Individual variation in locomotor behavior and maximal oxygen consumption in mice. *Physiology and Behavior*, v. 52, n. 1, 97-104, 1992.

GARLAND JR, T. Laboratory endurance capacity predicts variation in Field locomotor behaviour among lizard species. *Animal Behaviour*, v. 58, n. 1, p. 77-83, 1999.

GERALD, M. C. Effects of (+)-amphetamine on the treadmill endurance performance of rats. *Neuropharmacology*, v. 17, n. 9, p. 703-704, 1978.

GERECKE, K. M. *et al.* Exercise protects against MPTP induced neurotoxicity in mice. *Brain Research*, v. 1341, n. 23, p. 72-83, 2010.

GERFEN, C. R.; SURMEIER, D. J. Modulation of striatal projection systems by dopamine. *Annual Review of Neuroscience*, v. 34, p. 441-466, 2011.

GOMEZ-MERINO, D. *et al.* Site-dependent effects of an acute intensive exercise on extracellular 5-HT and 5-HIAA levels in rat brain. *Neuroscience Letters*, v. 301, n. 2, p. 143-146, 2001.

GONZALEZ, N. C. *et al.* Continued divergence in VO_{2max} of rats artificially selected for running endurance is mediated by greater convective blood O_2 delivery. *Journal of Applied Physiology*, v. 101, n. 5, p. 1288-1296, 2006.

GORDON, C. J. *Temperature Regulation in Laboratory Rodents*, Cambridge, UK: Cambridge University Press, 276 páginas, 1993.

GORDON, C. J. *et al.* Effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine on autonomic thermoregulatory responses of the rat. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, v. 38, n. 2, p. 339-344, 1991.

GORTON, L. M. *et al.* Exercise effects on motor and affective behavior and catecholamine neurochemistry in the MPTP-lesioned mouse. *Behavioural Brain Research*, v. 213, n. 2, p. 253-262, 2010.

GOTO, Y.; O'DONNELL, P. Synchronous activity in the hippocampus and nucleus accumbens in vivo. *The Journal of Neuroscience*, 2001, v. 21, p. 1-5, 2001

GRACE, A. A. Dopamine system dysregulation by the hippocampus: Implications for the pathophysiology and treatment of schizophrenia. *Neuropharmacology*, v. 62, n. 3, p. 1342-1348, 2012.

GRACE, A. A. *et al.* Regulation of firing of dopaminergic neurons and control of goal-directed behaviors. *TRENDS in Neurosciences*, v. 30, n. 5, p. 220-227, 2007.

GREENWOOD, B. N. *et al.* 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*, v. 57, n. 5, p. 559-568, 2005.

GREENWOOD, B. N. *et al.* Freewheel running prevents learned helplessness/behavioral depression: role of dorsal raphe serotonergic neurons. *The Journal of Neuroscience*, v. 23, n. 7, p. 2889-2898, 2003.

GREENWOOD, B. N. *et al.* Long-term voluntary Wheel running is rewarding and produces plasticity in the mesolimbic reward pathway. *Behavioural Brain Research*, v. 217, n. 2, p. 354-362, 2011.

GROENEWEGEN, H. J. The basal ganglia and motor control. *Neural Plasticity*, v. 10, 1-2, p. 107-120, 2003.

GUIMARÃES, J. B. *et al.* Fatigue is mediated by cholinceptors within the ventromedial hypothalamus independent of changes in core temperature. *Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports*, p 1-11, DOI: 10.1111/j.1600-0838.2011.01350.x, 2011.

HARGREAVES, M. Physiological limits to exercise performance in the heat. *Journal of Science and Medicine in Sport*, v. 11, n. 1, p. 66-71, 2008.

HASEGAWA, H. *et al.* Inhibition of the preoptic area and anterior hypothalamus by tetrodotoxin alters thermoregulatory functions in exercising rats. *Journal of Applied Physiology*, v. 98, n. 4, p. 1458-1462, 2005.

HASEGAWA, H. *et al.* Acute dopamine/norepinephrine reuptake inhibition increases brain and core temperature in rats. *Journal of Applied Physiology*, v. 99, p. 1397-1401, 2005.

HASEGAWA, H. *et al.* Influence of brain catecholamines on the development of fatigue in exercising rats in the heat. *The Journal of Physiology*, v. 586, n. 1, p. 141-149, 2008.

HASEGAWA, H. *et al.* Continuous monitoring of hypothalamic neurotransmitters and thermoregulatory responses in exercising rats. *Journal of Neuroscience Methods*, v. 202, n. 2, p. 119-123, 2011.

HASEGAWA, H. *et al.* Alteration in dopamine metabolism in the thermoregulatory center of exercising rats. *Neuroscience Letters*, v. 289, p. 161-164, 2000.

HASHEMI, P. *et al.* Brain dopamine and serotonin differ in regulation and its consequence. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 109, n. 29, p. 11510-11515, 2012.

HENDERSON, K. K. *et al.* Determinants of maximal O₂ uptake in rats selectively bred for endurance running capacity. *Journal of Applied Physiology*, v. 93, n. 4, p. 1265-1274, 2002.

HEYES, M. P.; GARNETT, E. S.; COATES, G. Central dopaminergic activity influences rats ability to exercise. *Life Sciences*, v. 36, n. 7, p. 671-677, 1985.

HEYES, M. P.; GARNETT, E. S.; COATES, G. Nigrostriatal dopaminergic activity is increased during exhaustive exercise stress in rats. *Life Sciences*, v. 42, n. 16, p. 1537-1542, 1988.

HØDAY, M. A. *et al.* Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. *European Journal of Preventive Cardiology*, v. 14, n. 6, p. 753-760, 2007.

HOFFMAN, P. *et al.* Effects of long-lasting voluntary running on the cerebral levels of dopamine, serotonin and their metabolites in the spontaneously hypertensive rat. *Life Sciences*, v. 54, n. 13, p. 855-861, 1994.

HOWLETT, R. A. *et al.* Selected contribution: skeletal muscle capillarity and enzyme activity in rats selectively bred for running endurance. *Journal Applied Physiology*, v. 94, n. 4, p. 1682-1688, 2002.

HUSAK, J. F. Does survival depends on how fast you *can* run or how fast you *do* run? *Functional Ecology*, v. 20, n. 6, p. 1080-1086, 2006.

HUSSAIN, S. O. *et al.* Cardiac function in rats selectively bred for low- and high-capacity running. *American Journal of Physiology Regulatory, Integrative Comparative Physiology*, v. 281, n. 6, p. R1787-R1791, 2001.

ISHIWATA, T. *et al.* Functional role of the preoptic area and hypothalamus in thermoregulation in freely moving rats. *Neuroscience Letters*, v. 325, n. 3, p. 167-170, 2002.

JACOBS, B. L.; FORNAL, C. A. Activation of 5-HT neuronal activity during motor behavior. *Seminars in Neuroscience*, v. 7, n. 6, p. 401-408, 1995.

JAKEMAN, P. M. *et al.* Evidence for downregulation of hypothalamic 5-hydroxytryptamine receptor function in endurance-trained athletes. *Experimental Physiology*, v. 79, n. 3, p. 461-464, 1994.

KAYSER, B. Exercise starts and ends in the brain. *European Journal of Applied Physiology*, v. 90, n. 3-4, p. 411-419, 2003.

KIYATKIN, E. A. Brain temperature responses to salient stimuli persist during dopamine receptor blockade despite a blockade of locomotor responses. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, v. 91, n.2, p. 233-242, 2008.

KNAB, A. M; LIGHTFOOT, J. T. Does the difference between physically active and couch potato lie in the dopamine systems? *International Journal of Biological Sciences*, v. 6, n. 2, p. 133-150, 2010.

KOCH, L. G.; BRITTON, S. L. Aerobic metabolism underlies complexity and capacity. *The Journal of Physiology*, v. 586, n. 1, p. 83-95, 2008.

KOCH, L. G.; BRITTON, S. L. Artificial selection of intrinsic aerobic endurance running capacity in rats. *Physiological Genomics*, v. 5, n. 1, p. 45-52, 2001.

KOCH, L. G.; BRITTON, S. L. Development of animal models to test the fundamental basis of gene-environment interactions. *Obesity*, v. 16, n. 3, p. S28-S32, 2008.

KOCH, L. G.; BRITTON, S. L. Divergent selection for aerobic capacity in rats as a model for complex disease. *Integrative and Comparative Biology*, v. 45, n. 3, p. 405-415, 2005.

KOCH, L. G.; BRITTON, S. L. Evolution, atmospheric oxygen, and complex disease. *Physiol Genomics*, v. 30, n. 3, p. 205-208, 2007.

KOOB, G. F.; SANNA, P. P.; BLOOM, F. E. Neuroscience of addiction. *Neuron*, v. 21, n. 3, p. 467-476, 1998.

KORTE, S. M. *et al.* Involvement of hypothalamic serotonin in activation of the sympathoadrenomedullary system and hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis in male Wistar rats. *European Journal of Pharmacology*, v. 197, n. 2-3, p. 225-228, 1991.

KRAVITZ, A. V.; KREITZER, A. C. Striatal mechanisms underlying movement, reinforcement, and punishment. *Physiology*, v. 27, p. 167-177, 2012.

KULIKOV, A. V. *et al.* A pharmacological evidence of positive association between mouse intermale aggression and brain serotonin metabolism. *Behavioural Brain Research*, v. 233, n. 1, p. 113-119, 2012.

LAMBERT, M. I. *et al.* Tests of running performance do not predict subsequent spontaneous running in rats. *Physiology and Behavior*, v. 60, n. 01, p. 171-176, 1996.

LEITE, L. H. R. *et al.* Central AT₁ receptor blockade increases metabolic cost during exercise reducing mechanical efficiency and running performance in rats. *Neuropeptides*, n. 41, p. 189-194, 2007.

LEITE, L. H. R. *et al.* Central angiotensin AT₁-receptor blockade affects thermoregulation and running performance in rats. *American Journal of Physiology Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, v. 291, n. 3, p. R603-R607, 2006.

LEITE, L. H. R. *et al.* Central fatigue induced by losartan involves brain serotonin and dopamine content. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, v. 42, n.8, p. 1469-1476, 2010.

LERMAN, I. *et al.* Genetic variability in forced and voluntary endurance exercise performance in seven inbred mouse strains. *Journal Applied Physiology*, v. 92, n. 6, p. 2245-2255, 2002.

LESSARD, S. J. *et al.* Impaired skeletal muscle β -adrenergic activation and lipolysis are associated with whole-body insulin resistance in rats bred for low intrinsic exercise capacity. *Endocrinology*, v. 150, n. 11, p. 4883-4891, 2009.

LETT, B. T. *et al.* Pairings of a distinctive chamber with the aftereffect of wheel running produce conditioned place preference. *Appetite*, v. 34, n. 1, 2000.

LIGHTFOOT, J. T. *et al.* Strain screen and haplotype association mapping of wheel running in inbred mouse strains. *Journal Applied Physiology*, v. 109, n. 3, p. 623-634, 2010.

MARQUES, E. *et al.* Influence of chronic exercise on the amphetamine-induced dopamine release and neurodegeneration in the striatum of the rat. *Annals of the New York Academy of Sciences*, v. 1139, p. 222 - 231, 2008.

MARTIN, C. L. *et al.* Hippocampal and striatal [H]5-HT reuptake under acute stressors in two rat strains differing for their emotivity, *Neurosci. Lett.* 288 (2000) 246–248.

MASSET, M. P.; BERK, B C. Strain-dependent differences in responses to exercise training in inbred and hybrid mice. *American Journal Physiology Regulatory Integrative Comparative Physiology*, v. 288, n. 4, p. R1006-R1013, 2005.

MASTORAKOS, G. *et al.* Exercise and the Stress System. *Hormones (Athens)*, v. 4, n. 2, p. 73-89, 2005.

MATHES, W. F. *et al.* Dopaminergic dysregulation in mice selectively bred for excessive exercise or obesity. *Behavioural Brain Research*, v. 210, n. 2, p. 155-163, 2010.

MCARDLE, W. D.; KATCH, F. I.; KATCH, V. L. *Fisiologia do Exercício. Energia, nutrição e desempenho humano*, 5ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1113 páginas, 2003.

MCNAMARA, R. K. *et al.* C57BL/6J mice exhibit reduced dopamine D3 receptor-mediated locomotor-inhibitory function relative to DBA/2J mice. *Neuroscience*, v. 143, n. 1, p. 141-153, 2006.

MEEK, T. H. *et al.* Endurance capacity of mice selectively bred for high voluntary wheel running. *The Journal of Experimental Biology*, v. 212, n. 18, p. 2908-2917, 2009.

MEEUSEN, R.; MEIRLEIR, K. Exercise and brain neurotransmission. *Sports Medicine*, v. 20, n. 3, p. 160-188, 1995.

MEEUSEN, R.; ROELANDS, B. Central fatigue and neurotransmitters, can thermoregulation be manipulated. *Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports*, v. 20, n. 3, p. 19-28, 2010.

MEEUSEN, R. *et al.* Effects of tryptophan and/or acute running on extracellular 5-HT and 5-HIAA levels in the hippocampus of food-deprived rats. *Brain Research*, v. 740, n. 1-2, p. 245-252, 1996.

MEEUSEN, R. *et al.* Central Fatigue: The serotonin hypothesis and beyond. *Sports Medicine*, v. 36, n. 10, p. 881-909, 2006.

MORA, F. *et al.* Stress, neurotransmitters, corticosterone and body-brain integration. *Brain Research*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.brainres.2011.12.049>, 2012.

NEWSHOLME, E. A.; BLOMSTRAND, E.; EKBLUM, B.; Physical and mental fatigue: metabolic mechanisms and importance of plasma amino acids. *British Medical Bulletin*, v. 48, n. 3, p. 477-495, 1992.

NG, G. Y. K.; O'DOWD, B. F.; GEORGE, S. R. Genotypic differences in brain dopamine receptor function in the DBA/2J and C57BL/6J inbred mouse strains. *European Journal of Pharmacology: Molecular Pharmacology*, v. 269, n. 3, p. 349-364, 1994.

NOLAND, R. C. *et al.* Artificial selection for high-capacity endurance running is protective against high-fat diet-induced insulin resistance. *American Journal of Physiology*, v. 293, n. 1, p. E31-E41, 2007.

PAXINOS G, WATSON C. *The rat brain in stereotaxic coordinates*, 4ª edição. Academic Press, 456 páginas, 1998.

PECK, B. K.; VANDERWOLF, C. H. Effects of raphe stimulation on hippocampal and neocortical activity and behaviour. *Brain Research*, v. 568, v. 1-2, p. 244-252, 1991.

PETZINGER, G. M. *et al.* Effects of treadmill exercise on dopaminergic transmission in the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-lesioned mouse of basal ganglia injury. *The Journal of Neuroscience*, v. 27, n. 20, p. 5291-5300, 2007.

PIACENTINI, M. F. *et al.* Hormonal responses during prolonged exercise are influenced by a selective DA/NA reuptake inhibitor. *British Journal of Sports Medicine*, v. 38, n. 2, p. 129-133, 2004.

PIRES, W. *et al.* Sinoaortic denervation prevents enhanced heat loss induced by central cholinergic stimulation during physical exercise. *Brain Research*, v. 1366, p. 120-128, 2010.

PRATT, W. E. *et al.* Selective serotonin receptor stimulation of the medial nucleus accumbens causes differential effects on food intake and locomotion, *Behavioral Neuroscience*, v. 123, n. 5, p. 1046-1057, 2009.

PRÍMOLA-GOMES, T. N. *et al.* Exercise capacity is related to calcium transients in ventricular cardiomyocytes. *Journal Applied Physiology*, v. 107, p. 593-598, 2009.

RHODES, J. S.; GAMMIE, S. C.; GARLAND JR, T. G. Neurobiology of mice selected for high voluntary wheel-running activity. *Integrative and Comparative Biology*, v. 45, n. 3, p. 438-455, 2005.

RHODES, J. S.; GARLAND, T. Differential sensitivity to acute administration of ritalin, apomorphine, SCH 23390, but not raclopride in mice selectively bred for hyperactive wheel-running behavior. *Psychopharmacology*, v. 167, n. 3, p. 242-250, 2003.

RHODES, J. S. *et al.* Exercise increases hippocampal neurogenesis to high levels but does not improve spatial learning in mice bred for increased voluntary Wheel running. *Behavioral Neuroscience*, v. 117, n. 5, p. 1006-1016, 2003.

ROBBINS, T. W.; EVERITT, B. J. Neurobehavioural mechanisms of reward and motivation. *Current Opinion on Neurobiology*, v. 6, n. 2, p. 228-236, 1996.

ROBERTS, M. D. *et al.* Dopamine D1 receptor modulation in nucleus accumbens lowers voluntary Wheel running in rats bred to run high distances, *Physiology and Behavior*, v. 105, n. 3, p. 661-668, 2012.

RODRIGUES, A. G. *et al.* Heat loss during exercise is related to serotonin activity in the preoptic area. *NeuroReport*, v. 20, n. 8, p. 804-808, 2009.

RODRIGUES, L. O. C. *et al.* Heat storage rate and acute fatigue in rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, v. 36, n. 1, p.131-135, 2003.

RODRIGUES, L. O. C.; SILAMI-GARCIA, E. Fadiga: falha ou mecanismo de proteção? *Temas atuais em educação física*, v. 4; p. 36-48, 1998.

ROELANDS, B. *et al.* Time trial performance in normal and high ambient temperature: is there a role for 5-HT? *European Journal Applied Physiology*, v. 107, n. 1, p. 119-126, 2009a.

ROELANDS, B. *et al.* Acute norepinephrine reuptake inhibition decreases performance in normal and high ambient temperature. *Journal Applied Physiology*, v. 105, n. 1, p. 206-212, 2008a.

ROELANDS, B. *et al.* The effects of acute dopamine reuptake inhibition on performance. *Medicine Science Sports Exercise*, v. 40, n. 5, p. 879-885, 2008b.

ROELANDS, B. *et al.* Performance and thermoregulatory effects of chronic bupropion administration in the heat. *European Journal Applied Physiology*, v. 105, n. 1, p. 493-498, 2009b.

ROELANDS, B; MEEUSEN, R. Alterations in central fatigue by pharmacological manipulations of neurotransmitters in normal and high ambient temperature. *Sports Medicine*, v. 40, n. 3, p. 229-246, 2010.

ROMANOVSKY, A. A. Thermoregulation: some concepts have changed. Functional architecture of thermoregulatory system. *American Journal of Physiology*, v. 292, n. 1, p. R37-R46, 2007.

ROMANOWSKI, W.; GRABIEC; S. The role of serotonin in the mechanism of central fatigue. *Acta Physiologica Polonica*, v. 25, n. 2, p. 127-134, 1974.

ROSSATO, J. I. *et al.* Dopamine controls persistence of long-term memory storage. *Science*, v. 325, p. 1017-1020, 2009.

SAMPAIO, I. B. M. Estatística aplicada à experimentação animal. 3ª edição. Belo Horizonte: Fundação de Estudo e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 2007.

SATOH, N. *et al.* The arcuate nucleus as a primary site of satiety effect of leptin in rats. *Neuroscience Letters*, v. 224, n. 3, p. 149-152, 1997.

SCHOLL, J. L. *et al.* Central monoamine levels differ between rat strains used in studies of depressive behavior, v. 1355, n. 8, p. 41-51, 2010.

SIMONEN, R. L. *et al.* A dopamine D2 receptor gene polymorphism and physical activity in two family studies. *Physiology and Behavior*, v. 78, n. 4-5, p. 751-757, 2003.

SOARES, D. D.; COIMBRA, C. C.; MARUBAYASHI, U. Tryptophan-induced central fatigue in exercising rats is related to serotonin content in preoptic area. *Neuroscience Letters*, v. 415, n. 3, p. 274, 278, 2007.

SOARES, D. D. *et al.* Fox odour affects corticosterone release but not hippocampal serotonin reuptake and open field behaviour in rats. *Brain Research*, v. 961, n. 1, p. 166-170, 2003a.

SOARES, D. D. *et al.* Evidence that tryptophan reduces mechanical efficiency and running performance in rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, v. 74, n. 2, p. 357-362, 2003b.

SOARES, D. D. *et al.* Intracerebroventricular tryptophan increases heating and heat storage rate in exercising rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, v. 78, n. 2, p. 255-261, 2004.

SOYA, H. *et al.* Threshold-like pattern of neuronal activation in the hypothalamus during treadmill running: establishment of a minimum running stress (MRS) rat model. *Neuroscience Research*, v. 58, n.4, p. 341-348, 2007.

SPARGO, F. J. *et al.* Dysregulation of muscle lipid metabolism in rats selectively bred for low aerobic running capacity. *American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism*, v. 292, n. 6, p. E1631-E1636, 2007.

SPIELEWOY, C. *et al.* Behavioural disturbances associated with hyperdopaminergia in dopamine-transporter knockout mice. *Behavioural Pharmacology*, v. 11, n. 3-4, p. 279-290, 2000.

ST CLAIR GIBSON; NOAKES, T. D. Evidence for complex system integration and dynamic neural regulation of skeletal muscle recruitment during exercise in humans. *British Journal Sports Medicine*, v. 38, n. 6, p. 797-806, 2004.

SUTOO, D.; AKIYAMA, K. The mechanism by which exercise modifies brain function. *Physiology and Behavior*, v. 60, n. 1, p. 177-181, 1996.

SVED, A. F.; BAKER, H. A.; REIS, D. J. Dopamine synthesis in inbred mouse strains which differ in numbers of dopamine neurons. *Brain Research*, v. 303, n. 2, p. 261-266, 1984.

SWALLOW, J. G.; CARTER, P. A.; GARLAND JR, T. Artificial selection for increased wheel-running behavior in house mice. *Behavior Genetics*, v. 28, n. 3, p. 227-237, 1998.

SWALLOW, J.G. *et al.* Effects of voluntary activity and genetic selection on aerobic capacity in house mice (*Mus domesticus*). *Journal of Applied Physiology*, v. 84, n. 1, p. 69-76, 1998.

SWALLOW, J. G. *et al.* Phenotypic and evolutionary plasticity of body composition in rats selectively bred for high endurance capacity. *Journal of Applied Physiology*, v. 109, n. 3, p. 778-785, 2010.

SWANSON-PARK, J. L. *et al.* A double dissociation within the hippocampus of dopamine D1/D5 receptor and β -adrenergic receptor contributions to the persistence of long-term potentiation. *Neuroscience*, v. 92, n. 2, p. 485-497, 1999.

SZCZYPKA, M. S. *et al.* Dopamine production in the caudate putamen restores feeding in dopamine-deficient mice. *Neuron*, v. 30, n. 3, p. 819-829, 2001.

TAJIRI, N. *et al.* Exercise exerts neuroprotective effects on Parkinson's disease model of rats. *Brain Research*, v. 1310, n. 15, p. 200-207, 2010.

TAKAHASHI, H. *et al.* Serotonergic neurons projecting to hippocampus activate locomotion. *Brain Research*, v. 869, n. 1-2, p. 194-202, 2000.

THOMAS, A. G. *et al.* The effects of aerobic activity on brain structure. *Frontiers in Psychology*, v. 3, n. 86, p. 1-9; 2012.

THYFAULT, J. P. *et al.* Rats selectively bred for low aerobic capacity have reduced hepatic mitochondrial oxidative capacity and susceptibility to hepatic steatosis and injury. *The Journal of Physiology*, v. 587, p. 1805-1816, 2009.

VAND DAMME, R.; VANHOOYDONCK, B. Origins of interspecific variation in lizard sprint capacity. *Functional Ecology*, v. 15, n. 2, p. 186-202, 2001.

VANDERWOLF, C. H. A general role for serotonin in the control of behavior: studies with intracerebral 5,7-dihydroxytryptamine. *Brain Research*, v. 504, n. 2, p. 192-198, 1989.

VANDERWOLF, C. H. *et al.* The role of serotonin in the control of cerebral activity: studies with intracerebral 5,7-dihydroxytryptamine. *Brain Research*, v. 504, n. 2, p. 181-191, 1989.

VEASEY, S. C. *et al.* Responses of serotonergic caudal raphe neurons in relation to specific motor activities in freely moving cats. *The Journal of Neuroscience*, v. 15, n. 7, p. 5346-5359, 1995.

WALSH, B. *et al.* Enhanced mitochondrial sensitivity to creatine in rats bred for high aerobic capacity. *Journal of Applied Physiology*, v. 100, n. 6, p. 1765-1769, 2006.

WANNER, S. P. *et al.* Physical exercise-induced cardiovascular adjustments are modulated by muscarinic cholinergic receptors within the ventromedial hypothalamic nucleus. *Physiological Research*, v. 59, n.2, p. 165-175, 2010.

WATERS, R. P. *et al.* Selection for intrinsic endurance modifies endocrine stress responsiveness. *Brain Research*, v. 1357, p. 53-61, 2010.

WATSON, P. *et al.* Acute dopamine/noradrenaline reuptake inhibition enhances human exercise performance in warm, but not temperate conditions. *The Journal of Physiology*, v. 565, p. 873-883, 2005.

WERME, M. *et al.* Δ FosB regulates wheel running. *The Journal of Neuroscience*, v. 22, n. 18, p. 8133-8138, 2002.

WERME, M. *et al.* Running and cocaine both upregulate dynorphin mRNA in medial caudate putamen. *European Journal of Neuroscience*, v. 12, n. 8, p. 2967-2974, 2000.

WIKGREN, J. Selective breeding for endurance running capacity affects cognitive but not motor learning in rats. *Physiology and Behavior*, v. 106, n. 2, p. 95-100, 2012.

YATHAM, L. N.; STEINER, M. Neuroendocrine probes of serotonergic function: a critical review. *Life Sciences*, v. 53, p. 447-463, 1993.

APÊNDICE A

Principais divergências entre os animais *high capacity runner* e *low capacity runner*

Autores e ano	Geração	Principais resultados
Hussain <i>et al.</i> (2001)	3° geração	Maior débito cardíaco nos animais HCR em relação ao LCR.
Henderson <i>et al.</i> (2002)	7° geração	Maior VO ₂ máximo, extração e capacidade de difusão tecidual de O ₂ nos animais HCR em relação ao LCR.
Howett <i>et al.</i> (2002)	7° geração	Maior densidade capilar, atividade de enzimas oxidativas nos animais HCR comparados aos LCR.
Gonzalez <i>et al.</i> (2006)	15° geração	Maior peso do miocárdio relativizado nos animais HCR comparados aos LCR.
Walsh <i>et al.</i> (2006)	15° geração	Maior sensibilidade mitocondrial em resposta a creatina nos animais HCR em relação aos LCR.
Noland <i>et al.</i> (2007)	13° geração	Maior concentração de triacilglicerol sérico, menos sensibilidade à insulina, menor capacidade oxidativa nos animais LCR quando comparados aos HCR. Maior ganho de tecido adiposo e diminuição na sensibilidade a insulina, nos animais LCR em relação aos HCR, quando submetidos à dieta hiperlipídica.

Autores e ano	Geração	Principais resultados
Spargo <i>et al.</i> (2007)	16° geração	Maior concentração sérica de insulina, glicose e ácidos graxos, maior concentração intramuscular de triacilglicerol, menor atividade da lipase hormônio sensível nos animais LCR quando comparados aos HCR.
Lessard <i>et al.</i> (2009)	16, 20 e 22° geração	Menor atividade do receptor β adrenérgico, menor capacidade de lipólise, menor concentração da CD36 nos animais LCR em relação aos HCR.
Swallow <i>et al.</i> (2010)	18° geração	Taxa metabólica elevada, maior atividade espontânea, maior área mitocondrial nos animais HCR quando comparados aos LCR.
Burghardt <i>et al.</i> (2011)	17° geração	Maior expressão do hormônio liberador de corticotropina no núcleo central da amígdala, maior peso da adrenal e timo, maiores concentrações de corticosterona em resposta a agentes estressores nos animais HCR em relação aos LCR.
Wikgren <i>et al.</i> (2012)	23° geração	Maior flexibilidade cognitiva nos animais HCR em relação aos LCR, quando submetidos à aprendizagem de uma nova tarefa.

APÊNDICE B - Distância máxima percorrida no teste progressivo dos animais do experimento 1 e 2

	CM	CB	CA	P
Distância (m) - exper. 1	660,00 ± 36,41	193,35 ± 17,06 *	1361,32 ± 75,77 * ⁺	<0,001
Distância (m) - exper. 2	580,37 ± 46,36	309,50 ± 39,58 *	1336,50 ± 41,74 * ⁺	<0,001

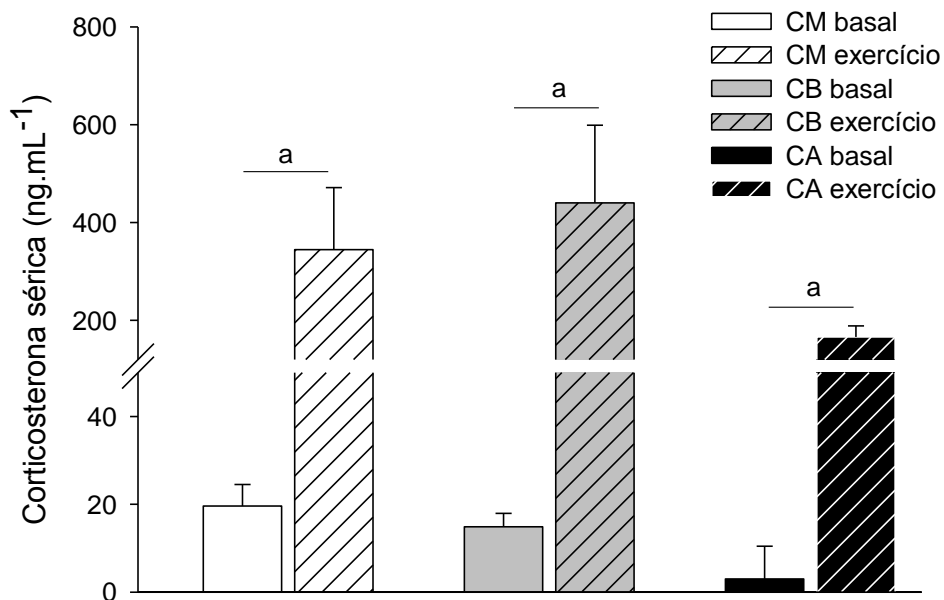
CM (n = 8); CB (n = 8); CA (n = 8), para cada experimento. * diferença em relação a CM. ⁺ diferença entre CB e CA. Os dados estão expressos como média ± EPM.

APÊNDICE C - Comparação entre as situações basal e exercício das concentrações de glicose e triacilglicerol séricos

	Basal	Exercício	p	Basal	Exercício	P
	Glicose (mg.dL ⁻¹)			Triacilglicerol (mg.dL ⁻¹)		
CM	136,97 ± 2,12	141,00 ± 4,95	0,86	131,50 ± 8,88	89,50 ± 9,55 ^a	0,006
CB	139,59 ± 1,88	137,83 ± 4,67	0,70	128,72 ± 8,70	131,68 ± 17,00	0,88
CA	139,91 ± 4,47	128,64 ± 8,97	0,28	129,54 ± 7,29	91,019 ± 10,65 ^a	0,009

CM (n = 8); CB (n = 8); CA (n = 8). ^a representa diferenças entre as situações experimentais. Os dados estão expressos como média ± EPM.

APÊNDICE D - Comparação entre as situações basal e exercício da concentração sérica de corticosterona



^a indica diferença entre as situações pré e pós exercício (CM: $p = 0,01$; CB: $p = 0,01$; CA: $p < 0,001$).

Os dados estão expressos como média \pm EPM.

ANEXO A - Certificado do Comitê de Ética em Experimentação Animal



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COMITÊ DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL
- C E T E A -

CERTIFICADO

Certificamos que o **Protocolo nº 61/2011**, relativo ao projeto intitulado "**A influência das monoaminas centrais na capacidade intrínseca para o exercício físico**", que tem como responsável(is) **Danusa Dias Soares**, está(ão) de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal, adotados pelo **Comitê de Ética em Experimentação Animal (CETEA/UFMG)**, tendo sido aprovado na reunião de **6/ 07/2011**.

Este certificado expira-se em **6/ 07/ 2016**.

CERTIFICATE

We hereby certify that the **Protocol nº 61/2011**, related to the project entitled "**The influence of central monoamines on intrinsic capacity for physical exercise**", under the supervisors of **Danusa Dias Soares**, is in agreement with the Ethical Principles in Animal Experimentation, adopted by the **Ethics Committee in Animal Experimentation (CETEA/UFMG)**, and was approved in **July 6, 2011**.

This certificate expires in **July 6, 2016**.

Belo Horizonte, 14 de Julho de 2011.

Prof^ª. Jacqueline Isaura Alvarez-Leite
Coordenadora do CETEA/UFMG

Universidade Federal de Minas Gerais
Avenida Antônio Carlos, 6627 – Campus Pampulha
Unidade Administrativa II – 2º Andar, Sala 2005
31270-901 - Belo Horizonte, MG - Brasil
Telefone: (31) 3499-4516
www.ufmg.br/bioetica/cetea - cetea@prpq.ufmg.br