

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE EDUCAÇÃO FÍSICA, FISIOTERAPIA E TERAPIA OCUPACIONAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DO ESPORTE

EXERCÍCIO VINCULADO AO ALIMENTO: UM MÉTODO DE
LABORATÓRIO MAIS PRÓXIMO DA NATUREZA

Ivana Alice Teixeira Fonseca

BELO HORIZONTE
Julho 2013

Ivana Alice Teixeira Fonseca

**EXERCÍCIO VINCULADO AO ALIMENTO: UM MÉTODO DE
LABORATÓRIO MAIS PRÓXIMO DA NATUREZA**

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

Orientador: Prof. Dr. Luiz Oswaldo Carneiro Rodrigues (EEFFTO/UFMG).

Co-orientador: Prof. Dr. Robert John Young (PUC-MG).

**BELO HORIZONTE
Julho 2013**

Tese de doutorado intitulada **“Exercício vinculado ao alimento: um método de laboratório mais próximo da natureza”** de autoria da doutoranda Ivana Alice Teixeira Fonseca, defendida em 23 de julho de 2013, na Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional da Universidade Federal de Minas Gerais, submetida à banca examinadora composta pelos professores:

Prof. Dr. Luiz Oswaldo Carneiro Rodrigues
Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional
Universidade Federal de Minas Gerais

Prof^a. Dr^a. Danusa Dias Soares
Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional
Universidade Federal de Minas Gerais

Prof. Dr. Samuel Penna Wanner
Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional
Universidade Federal de Minas Gerais

Prof. Dr. Enio Cardillo Vieira
Instituto de Ciências Biológicas
Universidade Federal de Minas Gerais

Prof. Dr. Fabiano Trigueiro Amorim
Faculdade de Ciências Biológicas e da Saúde
Universidade Federal do Vale do Jequitinhonha e Mucuri

Dedico este trabalho ao professor Lor, pela
inspiração cotidiana.

AGRADECIMENTOS

À minha família que me apoiou e me acolheu em todos os sentidos que essa palavra pode ter. Eu amo muito vocês!

Ao professor Lor por me incentivar, me inspirar e confiar em mim. Você me deixou livre para errar e crescer, mas me ajudou a perceber onde eu podia melhorar. Obrigada!

Às minhas amigas/irmãs Bidu, Adna, Sil e Nora, pela paciência e pelo apoio incondicional.

À amiga Renata, que dividiu comigo muito mais do que a coleta de dados ou as discussões sobre o trabalho. Não tenho como te agradecer!!!

Ao professor Dr. Robert John Young pelas sugestões e pela disponibilidade em ajudar.

Aos professores da banca Dra. Danusa Dias Soares, Dr. Samuel Penna Wanner, Dr. Enio Cardillo e Dr. Fabiano Trigueiro Amorim, pela presença e as inúmeras contribuições.

À Fernanda por compartilhar comigo momentos de dúvida e de empolgação, por todo o incentivo e a confiança.

À Vandinha pelas inúmeras leituras, pelas sugestões, pelo amor e a paciência.

Aos professores Dr. Cândido Celso Coimbra, Dr. Nilo Resende Viana Lima e Dr. Luciano Sales Prado, pelas contribuições e o apoio.

Ao Cláudio “da GAUSTEC” por ter acreditado no projeto e investido seu tempo e sua criatividade no desenvolvimento da gaiola.

Aos amigos Milene e Washington por confiarem em mim e por compartilharem comigo o trabalho e o tempo de vocês. Obrigada por me ensinarem os procedimentos cirúrgicos e o manuseio com os animais, de uma maneira cuidadosa, sem perder o rigor acadêmico. Espero que tenhamos outras oportunidades de trabalharmos juntos.

À Juliana, Letícia, Débora e Patrícia pela disponibilidade em me ajudar nas dosagens e nas eutanásias.

Aos colegas do LAFISE: Tarcila, Luiz Barcellos, Christiano Machado, Guilherme, Diogo, Christian, Ana Cançado, William, Cletiana, Michele, Thiago, Cristiano Lino, Carolina, Ana Cláudia e tantos outros por contribuírem de várias formas e em vários momentos.

Ao professor Dr. Theodore Garland Jr. por me receber em seu país, na sua casa e me ensinar sobre evolução e fisiologia comparada. Fiquei mais apaixonada pela biologia!

Aos colegas do laboratório da UCR: Wendy, Zoe, Gerald, Taylor, Laidy, Vincent, Jarren e outros por me ajudarem no período que fiquei na Califórnia e por dividirem comigo mais do que os procedimentos do laboratório.

À Karen pela imensa ajuda em todos os momentos que precisei.

À Maria Aparecida e à Maira pela dedicação e o carinho.

*“A mente que se abre a uma nova ideia jamais
voltará ao seu tamanho original”.*

(Albert Einstein)

RESUMO

Introdução e objetivos: A sobrevivência de algumas espécies na natureza depende da realização de atividades físicas relacionadas à obtenção do alimento, reprodução e para fugir de predadores. Este vínculo fisiológico entre a atividade física e a ingestão de alimento não tem sido considerado em grande parte dos estudos que investigam os mecanismos relacionados à homeostase energética. Portanto, os objetivos deste trabalho foram: 1) propor um método experimental que vincula a atividade física, realizada voluntariamente, ao fornecimento de alimento (protocolo 1); e, 2) verificar o efeito deste vínculo nos parâmetros do exercício, na composição corporal e na termorregulação (protocolo 2). **Métodos:** Este trabalho foi aprovado pelo comitê de ética em experimentação animal, da Universidade Federal de Minas Gerais (protocolo 180/10). No protocolo 1, 5 animais foram mantidos por 164 dias em gaiolas individuais de atividade, 147 dias no vínculo. O custo para a obtenção do alimento foi progressivamente aumentado em 15%, a cada três dias. No protocolo 2, 15 animais foram divididos em três grupos, um grupo onde os animais tiveram acesso livre e sem vínculo ao alimento (SV), um grupo com acesso livre à roda, com o vínculo entre o exercício e o alimento (CV) e um grupo mantido em caixa de acrílico padrão, sem acesso à atividade (SED). Os animais foram mantidos por 73 a 75 dias no experimento. No grupo CV, o custo para a obtenção do alimento foi aumentado progressivamente (90%) a cada três dias. Nos dois protocolos (1 e 2) o parâmetro principal utilizado para a determinação da taxa de esforço diário máximo foi a redução de 15 a 20% na massa corporal. No protocolo 3, 7 animais foram submetidos ao implante do sensor na região intraperitoneal e, após a recuperação, a temperatura colônica foi medida durante 65 minutos. Nos primeiros 5 minutos os animais foram contidos e a sonda de temperatura foi fixada manualmente, nos 60 minutos seguintes, os animais podiam se mover livremente na caixa e a sonda de temperatura foi fixada na cauda dos animais. **Resultados:** Os resultados principais do trabalho foram: aumento progressivo na distância percorrida pelos animais em função do aumento do custo para a obtenção do alimento; redução da massa corporal principalmente relacionada à redução no tecido adiposo; manutenção da massa úmida do coração, do fígado e dos músculos gastrocnêmio e sóleo; redução na temperatura colônica proporcional ao aumento da razão entre a distância e o alimento e, forte correlação entre as temperaturas medidas no cólon e na região intraperitoneal. **Conclusão:** O método permitiu a confirmação de comportamentos fisiológicos coerentes com as hipóteses originadas de observações em condições naturais, ou seja, de que os animais somente se exercitam significativamente se houver uma necessidade biológica. Além disso, o método foi capaz de induzir mecanismos de ajuste nos parâmetros do exercício, na massa corporal e na termorregulação relacionados com o aumento do custo para a obtenção do alimento.

Palavras-chave: exercício voluntário, gaiola de atividade, exercício na roda, corrida na esteira, massa corporal, termorregulação.

ABSTRACT

Introduction and aims: The survival of some species in nature involves physical activities related to obtaining food, reproduction, and to escape predators. This physiological link between physical activity and food intake has not been taken into account in most studies investigating the mechanisms related to energy homeostasis. Therefore, the aims of this study were: 1) to propose an experimental method that links physical activity, voluntarily performed, the supply of food (protocol 1), 2) determine the effect of this relationship in the parameters of exercise on body composition and thermoregulation (protocol 2). **Methods:** This study was approved by the Ethics Committee on Animal Experimentation of the Federal University of Minas Gerais (protocol 180/10). In protocol 1, 5 animals were kept for 164 days in individual cages of activity, during 147 days the exercise was synchronized with food. The cost for food was increased by 15%, every three days. In protocol 2, 15 animals were divided in three groups, one group where the animals had free access without link between activity and food (SV), a group with free access to the wheel, with the link between exercise and food (CV) and group kept in standard housing, without access to the activity (SED). The animals were kept for 73 to 75 days in the experiment. In the CV group, the cost for food was gradually increased by 90%, every three days. In both protocols (1 and 2) the main parameter used for determining the amount of maximum daily strain was 15% to 20% of reduction in body mass. In protocol 3, 7 animals underwent implantation of the sensor in the region and intraperitoneal, after recovery, the colonic temperature was measured for 65 minutes. In the first 5 minutes, the animals were restrained and the probe temperature was set manually, the following 60 minutes, the animals could move freely in the cage e the temperature probe was fixed on the tail of the animal. **Results:** The main results of the study were: progressive increase in the distance traveled by the animals due to the increased cost to obtain food, reduction of body mass mainly related to a reduction in adipose tissue; maintenance of wet mass of the heart, liver and gastrocnemius and soleus muscle, suggesting that the experiments the animals completed in a healthy condition; reduction in colonic temperature proportional to the ratio between the food and the distance and a strong correlation between the temperatures measured in the colon and intraperitoneally. **Conclusion:** The method allowed the observation of physiological behaviors consistent with the hypothesis derived from observations in natural conditions, such as the fact that animals only exercise significantly if there is a biological necessity. Moreover, the method could induce mechanisms for adjusting the exercise parameters, the body mass and thermoregulation related to increased cost for obtaining food.

Keywords: Voluntary exercise, running wheel activity, treadmill running, body mass, thermoregulation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Descrição da sequência temporal dos experimentos realizados	28
Figura 2: Delineamento experimental para determinação da taxa de esforço diário máxima.	28
Figura 3: Curva hipotética representando a taxa de esforço diário máxima à medida que a distância percorrida/alimento fornecido aumenta.	30
Figura 4: Sequência dos procedimentos realizados, diariamente, durante o experimento.	30
Figura 5: Descrição da sequência temporal dos procedimentos realizados nos grupos com vínculo (CV), sedentários (SED) e sem vínculo (SV).	32
Figura 6: Delineamento experimental utilizado no grupo que realizou o exercício na roda vinculado à quantidade de alimento fornecida.	33
Figura 7: Sequência temporal dos procedimentos realizados durante o experimento.	34
Figura 8: Foto da gaiola desenvolvida na primeira fase do projeto que permite sincronização entre o exercício realizado e a quantidade de alimento fornecido.	36
Figura 9: Foto do dispensador eletrônico de alimento e da caixa para fornecimento da ração.	36
Figura 10: Foto do sensor de movimento (<i>encoder</i>) da roda que codifica o exercício realizado pelo animal.	37
Figura 11: Esteira GAUSTEC utilizada para medir a velocidade máxima obtida pelo animal durante o teste progressivo.	41
Figura 12: Variáveis medidas no período da familiarização nas gaiolas (FAMIL) em função da razão entre a distância e o alimento (m/g).	47
Figura 13: Relação entre distância percorrida (m) e razão entre distância/alimento programada na gaiola (m/g).	48
Figura 14: Quantidade de alimento ingerido (g) em função da distância média percorrida (m) pelos animais, durante a familiarização e na primeira situação com vínculo (66m/g).	49
Figura 15: Restrição calórica (%) em função da razão entre distância/alimento programada na gaiola (m/g).	49
Figura 16: Distância percorrida (m) na fase clara e escura, nas situações: familiarização (FAMIL), 66, 302 e 539m/g.	50

Figura 17: Velocidade média (m/min) em função da razão entre distância/alimento programada na gaiola (m/g).	51
Figura 18: Velocidade média (m/min), na fase clara e escura, nas situações: familiarização (FAMIL), 66, 302 e 539m/g.	52
Figura 19: Percentual da velocidade máxima obtida no teste progressivo (%) em função da razão entre distância/alimento programada na gaiola (m/g).	53
Figura 20: Temperatura colônica (°C) em função da razão entre distância/alimento programada na gaiola (m/g).	53
Figura 21: Variáveis medidas na fase 1 (-16), na fase 2 (-10) e a cada três dias (fase 3), nos grupos com vínculo, sem vínculo e sedentários.	56
Figura 22: Temperatura colônica (°C) medida na fase 1 (-16), na fase 2 (-10) e a cada três dias (fase 3), nos grupos com vínculo, sem vínculo e sedentários.	58
Figura 23: Relação entre distância percorrida (m) e razão entre distância/alimento programada na gaiola (m/g) no grupo CV, durante a fase 3.	59
Figura 24: Relação entre a disponibilidade de alimento (%), na fase 2 (-10) e a cada três dias (fase 3), nos grupos com vínculo, sem vínculo e sedentários.	60
Figura 25: Velocidade média (A) e máxima (B) (m/min), na fase 2 (-10) e a cada três dias (fase 3), nos grupos com vínculo e sem vínculo.	61
Figura 26: Distância percorrida (m) na fase clara (A) e escura (B), na fase 2 (-10) e a cada três dias (fase 3), nos grupos com vínculo e sem vínculo.	63
Figura 27: Velocidade média (m/min) na fase clara (A) e na escura (B), na fase 2 (-10) e a cada três dias (fase 3), nos grupos com vínculo e sem vínculo.	64
Figura 28: Percentual da velocidade máxima obtida no teste progressivo (%), na fase 2 (-10) e a cada três dias (fase 3), nos grupos com vínculo e sem vínculo.	65
Figura 29: Correlação entre as temperaturas colônica e intraperitoneal (°C) durante dois minutos com contenção e fixação manual da sonda (A) e durante 60 minutos sem contenção e fixação da sonda na cauda do animal (B).	68

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Descrição dos valores da razão entre a distância e o alimento (RDA) correspondentes aos aumentos programados na distância a partir das situações com vínculo.	28
Tabela 2: Descrição dos valores da razão entre a distância e o alimento (RDA) correspondentes aos aumentos programados na distância a partir das situações com vínculo.	33
Tabela 3: Composição da ração fornecida aos animais.	39
Tabela 4: Velocidade máxima (m/min) e duração (min) dos testes progressivos realizados antes (pré) e após (pós) o experimento.	54
Tabela 5: Massa corporal (g) no dia da eutanásia e massa úmida (g) dos tecidos, comprimento do fêmur (cm) e índice de adiposidade (%).	66
Tabela 6: Razão entre a massa úmida dos tecidos e a massa corporal no dia da eutanásia, comprimento do fêmur relativizado pelo comprimento total do animal.	67

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADR. D.	Adrenal direita
COMP	Comprimento
CV	Com vínculo
FAMIL	Familiarização
FD	Fêmur direito
GAST. D.	Gastrocnêmio direito
IA	Índice de adiposidade
LAFISE	Laboratório de Fisiologia do Exercício
MC	Massa corporal
MR	Massa relativizada
PROGR	Progressivo
SED	Sedentário
SOL. D.	Sóleo direito
SV	Sem vínculo
TAE	Tecido adiposo epididimal
TAM	Tecido adiposo mesentérico
TAMAR	Tecido adiposo marrom
TAR	Tecido adiposo retroperitoneal
TED	Taxa de esforço diário
TED _{máx}	Taxa de esforço diário máximo

UFMG

Universidade Federal de Minas Gerais

$\text{VO}_{2\text{máx}}$

Consumo de oxigênio máximo

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BREVE HISTÓRICO DA PERGUNTA 18

1. INTRODUÇÃO 21

2. OBJETIVO GERAL 25

2.1. Objetivo específico 25

3. MATERIAIS E MÉTODOS 26

3.1. Cuidados éticos 26

3.2. Animais 26

3.3. Protocolos experimentais 26

3.3.1. Protocolo 1 26

3.3.2. Protocolo 2 31

3.3.3. Protocolo 3 34

3.4. Gaiolas 35

3.5. Variáveis medidas e calculadas 37

3.5.1. Exercício 37

3.5.2. Alimento 38

3.5.3. Composição corporal 39

3.5.4. Teste progressivo na esteira 40

3.5.5. Temperatura ambiente 41

3.5.6. Temperatura colônica 41

3.5.7. Temperatura intraperitoneal 42

3.6. Eutanásia dos animais 43

3.7. Análise estatística 43

3.7.1. Cálculo amostral	44
4. RESULTADOS	46
4.1. Protocolo 1	46
4.2. Protocolo 2	54
4.3. Protocolo 3	67
5. DISCUSSÃO	69
5.1. Efeito do vínculo nos parâmetros do exercício	69
5.2. Efeito do vínculo na composição corporal	73
5.3. Efeito do vínculo na temperatura colônica	77
5.4. Método forçado vs método voluntário sem vínculo vs método voluntário vinculado ao fornecimento de alimento	80
6. LIMITAÇÕES	83
CONCLUSÕES	84
REFERÊNCIAS	85
ANEXOS	95
ANEXO A: protocolo de Aprovação do Comitê de Ética em Experimentação Animal/UFMG	96
APÊNDICES	97
Apêndice A: dados protocolo 1	98
Massa corporal – protocolo 1	98
Quantidade de alimento ingerido – protocolo 1	99
Distância percorrida – protocolo 1	100
Distância percorrida na fase clara – protocolo 1	101
Distância percorrida na fase escura – protocolo 1	102
Velocidade média – protocolo 1	102
Velocidade média na fase clara – protocolo 1	103
Velocidade média na fase escura – protocolo 1	103
Temperatura colônica – protocolo 1	103
Apêndice B: dados protocolo 2	105
Grupo com vínculo entre o exercício e o fornecimento de alimento (CV)	105

Massa corporal – protocolo 2	105
Quantidade de alimento ingerido – protocolo 2	106
Distância percorrida – protocolo 2	106
Distância percorrida na fase clara – protocolo 2	107
Distância percorrida na fase escura – protocolo 2	107
Velocidade média – protocolo 2	108
Velocidade média na fase clara – protocolo 2	108
Velocidade média na fase escura – protocolo 2	109
Velocidade máxima – protocolo 2	109
Temperatura colônica – protocolo 2	110
Grupo sem vínculo entre o exercício e o fornecimento de alimento (SV)	111
Massa corporal – protocolo 2	111
Quantidade de alimento ingerido – protocolo 2	111
Distância percorrida – protocolo 2	112
Distância percorrida na fase clara – protocolo 2	112
Distância percorrida na fase escura – protocolo 2	113
Velocidade média – protocolo 2	113
Velocidade média na fase clara – protocolo 2	114
Velocidade média na fase escura – protocolo 2	114
Velocidade máxima – protocolo 2	115
Temperatura colônica – protocolo 2	115
Grupo sedentário (SED)	116
Massa corporal – protocolo 2	116
Quantidade de alimento ingerido – protocolo 2	116
Temperatura colônica – protocolo 2	117
Apêndice C: dados protocolo 3	118
Temperatura colônica – protocolo 3	118
Temperatura intraperitoneal – protocolo 3	119
Apêndice D: massa úmida dos tecidos - protocolo 1	122

BREVE HISTÓRICO DA PERGUNTA

O laboratório de Fisiologia do Exercício (LAFISE) da Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional da UFMG foi fundado em 1976. Os trabalhos produzidos neste laboratório, em humanos e em ratos, envolvem questões relacionadas aos fatores que interferem na fadiga, dentre eles os efeitos termorregulatórios e metabólicos.

A fadiga é um fenômeno complexo, que tem sido amplamente discutido nos últimos 120 anos (MOSSO, 1892; FLETCHER, 1904; RAKESTRAW, 1921; HILL et al., 1924; EDWARDS, 1981; GONZÁLEZ-ALONSO et al., 1999; GANDEVIA, 2001; NYBO; NIELSEN, 2001). Diversos mecanismos foram propostos para explicar a sua ocorrência e muitos deles se referem a fatores isolados (periféricos ou centrais) que até hoje ainda são considerados, embora haja diversos trabalhos mostrando a importância da fadiga ser entendida como um modelo integrado (RODRIGUES; SILAMI-GARCIA, 1998; NOAKES, 2000; NOAKES; GIBSON, 2004; ABBISS; LAURSEN, 2005; LAMBERT et al., 2005; NOAKES et al., 2005; MARCORA, 2008; TUCKER; NOAKES, 2009).

O método tradicionalmente utilizado para investigar a fadiga na perspectiva do modelo isolado é o exercício forçado, com intensidade fixa, progressiva ou constante, tanto em humanos como em animais. No entanto, para testar a fadiga como modelo integrado, o método deveria considerar as decisões do indivíduo durante o exercício (NOAKES, 2011), e, por volta de 2005, o método de exercício de intensidade autorregulada foi sugerido para o estudo da fadiga nesta perspectiva (LAMBERT et al., 2005; NOAKES et al., 2005). Nos trabalhos realizados desde 2007 no LAFISE, utilizando o método de intensidade autorregulada, observamos que os indivíduos modificaram a intensidade do exercício para manter a homeostase independente do uso de bonés (FERREIRA JUNIOR et al., 2013), de protetor solar (OLIVEIRA, 2009), da camisa (BORBA, 2009), do cabelo na cabeça (MARTINI, 2009), do sexo e da idade (PASSOS, 2011). No entanto, com o método de intensidade autorregulada, não era possível responder algumas questões importantes para o entendimento da fadiga como modelo integrado, dentre elas, como este fenômeno ocorre em situações naturais.

Os animais na natureza realizam a atividade física com algum objetivo, seja para reproduzirem, para obterem alimento ou para fugirem de predadores¹. É possível que a fadiga vivenciada por estes animais na natureza seja o resultado do balanço entre os custos e os benefícios envolvidos na realização dessa atividade. Nesse sentido, não é possível pensarmos na fadiga somente como a interrupção do exercício, mas como um resultado contínuo das decisões do animal. A fadiga passa então a ser entendida no LAFISE não só como um fenômeno complexo e integrado, mas também determinado evolutivamente.

Do ponto de vista evolutivo, haveria uma determinada quantidade de investimento energético diário, individual e/ou do grupo, controlado centralmente e, evolutivamente selecionado, que determinaria o comportamento do animal na decisão de iniciar, continuar ou interromper o exercício.

Para testarmos este modelo de fadiga, experimentalmente, desenvolvemos uma gaiola de atividade onde o animal poderia realizar o exercício voluntariamente, motivado pela necessidade de obter o alimento, como acontece na natureza. Esta gaiola está equipada com uma roda para o exercício e uma interface eletrônica para o armazenamento e a programação da atividade que pode ser vinculada ou não ao fornecimento de alimento (ver detalhes na seção 3.4 deste trabalho) (FIG. 8). A construção da gaiola demorou dois anos e várias perguntas nortearam os experimentos que se seguiram, dentre elas: os ratos iriam correr nas gaiolas de atividade motivados pela obtenção de alimento? Quanto eles correriam? Quais os parâmetros que determinariam a fadiga neste modelo? Os animais estariam saudáveis ao final do experimento? Para responder a estas perguntas, realizamos os protocolos 1 e 2, descritos nas seções 3.3.1 e 3.3.2 deste trabalho.

No decorrer dos experimentos percebemos que a fadiga, da maneira como estávamos propondo, foi tomando uma forma completamente diferente daquela tradicionalmente e mundialmente aceita. A fadiga medida utilizando métodos forçados, no laboratório, valoriza a interrupção do exercício de forma aguda, numa condição onde o indivíduo é obrigado a realizar a atividade em condições (intensidade, duração e momento do dia)

¹ Outras atividades físicas realizadas pelos animais na natureza, aparentemente sem objetivo, podem contribuir para a aprendizagem ou o treinamento de algumas habilidades e, em algumas espécies, as atividades também podem estar envolvidas em algumas necessidades sociais do indivíduo ou do grupo.

impostas pelo experimentador. Na natureza a fadiga seria crônica, determinada pela decisão do animal em iniciar, continuar ou interromper a atividade, motivado pelos desafios impostos pela sobrevivência. Nesse sentido, a expressão **taxa de esforço diário** representa de maneira mais adequada este conceito, ao invés de fadiga e, o método do exercício vinculado ao fornecimento de alimento aproxima os animais de condições mais naturais, o que nos permite um melhor entendimento sobre os mecanismos envolvidos na realização do exercício. Neste trabalho discutiremos os efeitos do vínculo na composição corporal, nos parâmetros do exercício e na termorregulação.

INTRODUÇÃO

A sobrevivência na natureza é um desafio constante na vida de diversos animais e é determinada por um conjunto de habilidades que envolvem os comportamentos de forrageamento, a fuga de predadores, a reprodução e o deslocamento. Essas habilidades, em conjunto, determinam o sucesso da espécie em sobreviver e, portanto, podem ser selecionadas pela seleção natural e sexual (SWALLOW et al., 2009). Tais comportamentos são interdependentes, ou seja, o tempo gasto no forrageamento ou na reprodução podem aumentar o risco de predação. Nesse sentido, no que se refere ao forrageamento, por exemplo, o animal não se comporta de maneira aleatória, ele decide levando em consideração o resultado entre os custos e os benefícios gerados pelo comportamento, de modo que ele obtenha o máximo de benefício líquido, o que não necessariamente representa uma taxa máxima de obtenção de alimento (HOUSTON; McNAMARA, 1989; LEMON; BARTH, 1992; SHAMOUN-BARANES; VAN LOON, 2006; YOUNG; LAWRENCE, 1996).

Os custos incluídos na busca e na coleta de alimentos podem variar em função das características selecionadas naturalmente em cada espécie e, por isso, podem estar relacionados ao tempo gasto na caça ou na coleta de alimentos ou ao gasto energético despendido no movimento corporal (KREBS et al., 1996). A relação ótima entre a quantidade de exercício necessária para a obtenção de alimento, para fugir de predadores e para a reprodução, pode, evolutivamente, ter sido selecionada de modo que haja uma taxa de esforço diário (TED), que ajustaria a atividade física em função do seu resultado médio, em termos dos riscos e ganhos para a sobrevivência. Os ganhos relacionados à realização do esforço resultariam em maior probabilidade de reprodução do indivíduo (HOUSTON; McNAMARA, 1989) o que garantiria a sobrevivência da espécie.

Antes da domesticação dos animais e do desenvolvimento das máquinas, por exemplo, as atividades dos seres humanos eram inteiramente dependentes do esforço físico. Havia, portanto, uma relação natural e obrigatória entre a obtenção de energia (alimento) e o gasto energético (atividade física) (DUDLEY, 2001; EATON; EATON, 2003; BRAMBLE; LIEBERMAN, 2004). As mudanças na organização social e o desenvolvimento tecnológico provocaram modificações permanentes na relação entre a

prática de atividades físicas e a obtenção de alimentos em humanos (BLAIR et al., 1992; CHAKRAVARTHY; BOOTH, 2004; WELLS, 2006), o que pode ter contribuído para o aumento no índice de massa corporal observado nos humanos nos últimos 30 anos (HILL, 2006).

O aumento da prevalência de obesidade observada em alguns países, principalmente aqueles da América do Norte e Europa², tem motivado diversos estudos sobre esse tema. Em pesquisa bibliográfica no *site Highwire*, considerando o termo obesidade somente no título de artigos publicados no começo dos séculos XX e XXI (de 1900 a 1912 = 7 artigos; de 2000 a 2012 = 7427 artigos), houve um aumento de 106000%³ na produção científica sobre esse assunto. Os principais fatores que contribuíram para o aumento das publicações sobre obesidade foram os avanços tecnológicos, aumento de investimento em pesquisa, número de pesquisadores e aumento do número de instituições de pesquisa. Diante desse aumento, podemos afirmar que a obesidade tem sido um assunto de interesse crescente.

Alguns desses trabalhos mostram que a obesidade e o sobrepeso observado em animais de laboratório e no ser humano, têm causas associadas e se referem, sobretudo, a distúrbios genéticos, bioquímicos, conteúdo da dieta e redução do nível de atividade física ou inatividade (TAUBES, 2013). Esses fatores interferem diretamente nos mecanismos de controle da homeostase energética, que resulta do balanço entre o gasto energético da atividade realizada para a obtenção do alimento, o metabolismo basal e a quantidade energética contida no alimento obtido (GELEGEN et al., 2006).

Os mecanismos fisiológicos relacionados com a homeostase energética envolvem diversas áreas cerebrais de controle e integração e, também, respostas hormonais interdependentes relacionadas ao tecido adiposo (SCHWARTZ et al., 2000; KRÜGEL et al., 2003; FIGLEWICZ et al., 2003) que evoluíram no sentido de ajustar a quantidade de alimento ingerido e o gasto energético diário em virtude da manutenção da massa corporal (HARRIS, 1990; MORTON et al., 2006). Esses ajustes no comportamento alimentar para manter a massa corporal estão relacionados e influenciam outros comportamentos, como a reprodução. Na natureza, em condições de escassez de

² *International Obesity Taskforce*. Disponível em: <http://www.iaso.org/iotf/news/>. Acesso em: maio de 2013.

³ Valor calculado a partir de uma busca no *Highwire* (<http://highwire.stanford.edu/>). Acesso em: maio/2013.

alimento, o animal realiza mais atividade física e apresenta fertilidade reduzida; ao contrário, quando a disponibilidade de recursos está abundante, há redução do esforço diário na procura de alimentos associada à maior fertilidade (MORTON et al., 2006; ROWLAND et al., 2008).

O modelo teórico para a homeostase energética vincula, fisiologicamente, a atividade física à obtenção de alimentos, no entanto, essa relação tem sido, por vezes, avaliada utilizando protocolos experimentais que isolam os efeitos de um dos fatores, ou seja, o efeito do exercício na ingestão calórica (TOKUYAMA et al., 1982; STUBBS et al., 2002) ou o efeito da ingestão calórica na quantidade de exercício realizada (BELKE et al., 2004; KANAREK et al., 2009). Mesmo os protocolos que utilizam o exercício voluntário, realizados na roda, o exercício não está vinculado ao fornecimento de alimento e, por isso, observa-se que algumas espécies, entre elas os ratos, realizam atividades físicas voluntariamente sem um propósito aparente (SHERWIN, 1998) o que altera diretamente alguns parâmetros, como a ingestão calórica (NOVAK et al., 2012). Alguns animais apresentam um comportamento anormal quando submetidos a protocolos de restrição calórica com acesso livre à roda. Este comportamento tem sido associado à anorexia nervosa (ROUTTENBERG; KUZNESOF, 1967; ALTEMUS et al., 1993; BURDEN et al., 1993). Portanto, esses protocolos amplamente vigentes na literatura mundial, estão distantes de uma situação natural para a avaliação dos efeitos do exercício sobre os sistemas orgânicos. Assim, a utilização de um método laboratorial no qual a atividade física esteja vinculada à obtenção do alimento contribui para avanços no estudo da Fisiologia do exercício.

Em laboratório, poucos trabalhos vincularam o fornecimento de alimento à quantidade de atividade realizada. Perrigo e Bronson (1983), por exemplo, foram pioneiros na utilização deste método. Eles investigaram o efeito do aumento do custo do forrageamento na capacidade reprodutiva de camundongos (fêmeas). Outro grupo de pesquisadores, Vaanholt et al. (2007), utilizando o mesmo modelo experimental, observaram que animais selecionados para altos níveis de atividade correram cerca de 28% mais que o grupo não selecionado quando não havia vínculo entre a atividade e o alimento. Quando o exercício foi vinculado ao fornecimento de alimento, os dois grupos percorreram distâncias semelhantes ($23,2 \pm 1,4$ vs $23,4 \pm 1,4$ km/dia, grupo não selecionado e selecionado, respectivamente). Dessa forma, esse resultado indica que,

quando esses animais precisam realizar o exercício para obter o alimento, sem nenhuma outra modificação no ambiente, as diferenças intrínsecas tão acentuadas entre os dois grupos, mencionados anteriormente, podem não ser importantes.

Embora o método vinculado tenha sido utilizado em estudos prévios (VAANHOLT et al., 2007; PERRIGO;BRONSON, 1983; PERRIGO, 1987), nenhum desses trabalhos comparou a maior distância percorrida por ratos em busca de alimentos com aquela percorrida sem finalidade aparente. Além disso, não houve um relato sobre os efeitos do vínculo sobre os parâmetros do exercício, na composição corporal e na termorregulação.

2 – OBJETIVO GERAL

Verificar o efeito da atividade física motivada pela obtenção de alimento nos parâmetros do exercício, na composição corporal e na termorregulação.

2.1 – Objetivo específico

Padronizar o método do exercício voluntário, vinculado ao fornecimento de alimento em ratos.

3 – MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 - Cuidados éticos

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CETEA: protocolo nº 180/10 – ANEXO A) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

3.2 – Animais

Foram utilizados 27 ratos Wistar, provenientes do biotério do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG. Antes dos procedimentos experimentais, os animais foram mantidos no Biotério da Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional/ UFMG em caixas coletivas (com no máximo de 4 animais por caixa), sob um ciclo claro-escuro de 14/10 h (luzes acesas das 5:00 às 19:00 h), em temperatura ambiente mantida entre 24 a 26° C. O alimento e a água foram fornecidos *ad libitum*.

3.3 - Protocolos experimentais

Foram realizados três protocolos experimentais:

3.3.1. Protocolo 1

Objetivo: Padronizar o método do exercício realizado na roda vinculado à quantidade de alimento fornecida.

Protocolo experimental: 5 ratos Wistar ($227,6 \pm 3,0$ g; média \pm dp), após cinco dias de familiarização à esteira, foram submetidos a um teste progressivo para a determinação da velocidade máxima de corrida. Dois dias após os testes, os animais foram mantidos

por dez dias (familiarização) em gaiolas de atividade (individuais), com alimento e água *ad libitum*. A temperatura ambiente foi mantida entre 24 e 26° C (FIG. 1).

Esse período de familiarização na gaiola foi utilizado como parâmetro para o cálculo da distância percorrida por grama de alimento fornecido (m/g). A média da razão entre distância percorrida/alimento fornecido (RDA) do período da familiarização na gaiola foi utilizada para a primeira situação com vínculo entre o exercício e o alimento (situação 1). A partir dessa situação, a distância percorrida para a obtenção da mesma quantidade de alimento foi progressivamente acrescida em 15%, a cada três dias (protocolo adaptado de VAANHOLT et al., 2007), até que os animais atingissem uma RDA máxima, que foi considerada como a taxa de esforço diário máxima ($TED_{máx}$) (FIG. 1, 2 e tabela 1). O principal parâmetro para a determinação da $TED_{máx}$ foi a redução de 15% a 20% da massa corporal dos animais, provocado pelo platô na distância percorrida com aumento da distância programada e pela redução da ingestão alimentar (PERRIGO; BRONSON, 1983; VAANHOLT et al., 2007) (FIG. 3). Este limite para a redução na massa corporal foi escolhido de acordo com os resultados de Ferguson e Paule (1997) que mostraram que não houve alteração da motivação para buscar alimentos quando houve redução entre 15 a 20% da massa corporal. Os animais foram eutanasiados após os experimentos.

Os procedimentos experimentais foram realizados no período de 10/01/2011 a 22/06/2011. A duração total dos experimentos foi de 164 dias: 5 dias de familiarização na esteira, 2 dias nos testes progressivos, 10 dias de familiarização nas gaiolas e 147 dias de vínculo. Depois desses 164 dias, os animais foram mantidos por mais 107 dias, na situação 302m/g, para a realização de experimentos piloto onde testamos o efeito da variação da temperatura ambiente na distância percorrida pelos animais. Os animais foram eutanasiados após esse período de 107 dias (FIG. 1) (os dados relacionados à composição corporal desses animais, no dia da eutanásia, estão apresentados no apêndice D).

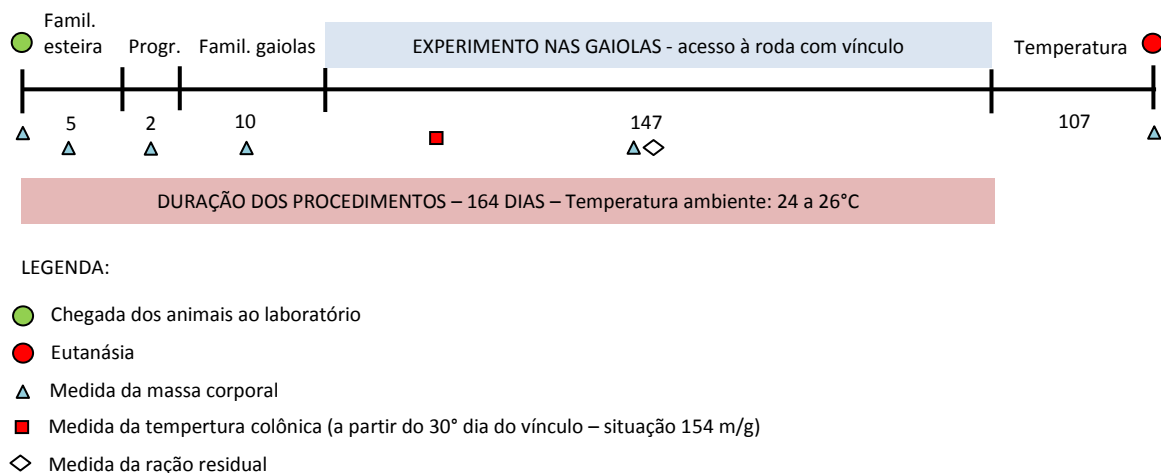


FIGURA 1: Descrição da sequência temporal dos experimentos realizados.

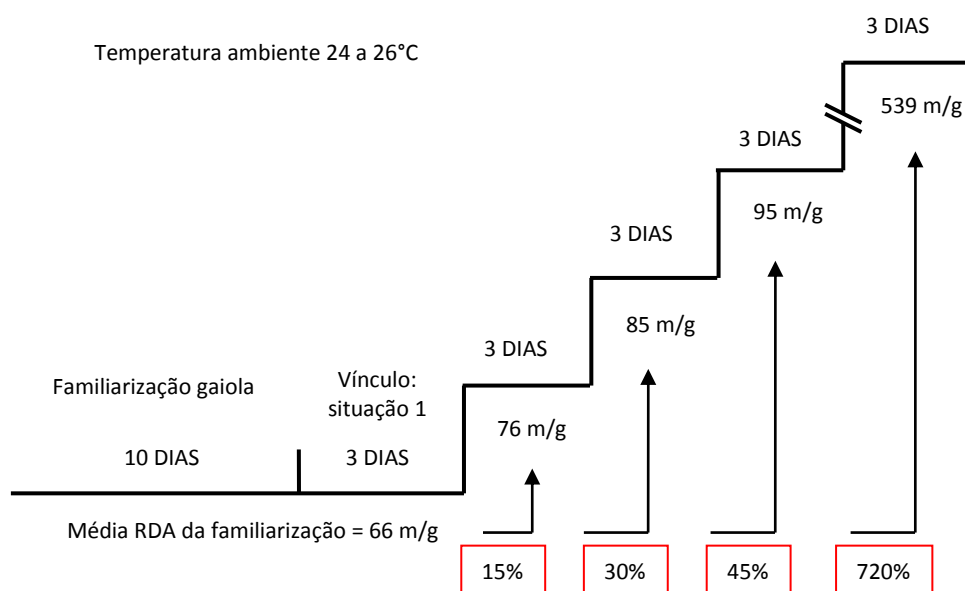


FIGURA 2: Delineamento experimental para determinação da taxa de esforço diário máxima. RDA: razão entre distância percorrida/alimento fornecido (m/g). A média da RDA obtida no período de familiarização na gaiola foi de 66 m/g e foi utilizada para sincronização do fornecimento de alimento em função do exercício realizado na situação 1 (66 m/g).

TABELA 1: Descrição dos valores da razão entre a distância e o alimento (RDA) correspondentes aos aumentos programados na distância a partir das situações com vínculo.

DIAS	AUMENTO (%)	RDA (m/pellet)	RDA (m/g)
3	0	263	66
6	15	302	76
9	30	341	85
12	45	381	95
15	60	420	105

18	75	460	115
21	90	499	125
24	105	538	135
27	120	578	144
30	135	617	154
33	150	657	164
36	165	696	174
39	180	735	184
42	195	775	194
45	210	814	204
48	225	854	213
51	240	893	223
54	255	932	233
57	270	972	243
60	285	1011	253
63	300	1051	263
66	315	1090	273
69	330	1131	283
72	345	1170	293
75	360	1210	302
78	375	1249	312
81	390	1289	322
84	405	1328	332
87	420	1368	342
90	435	1407	352
93	450	1447	362
96	465	1486	371
99	480	1525	381
102	495	1565	391
105	510	1604	401
108	525	1644	411
111	540	1683	421
114	555	1723	431
117	570	1762	441
120	585	1802	450
123	600	1841	460
126	615	1880	470
129	630	1920	480
132	645	1959	490
135	660	1999	500
138	675	2038	510
141	690	2078	519
144	705	2117	529
147	720	2157	539

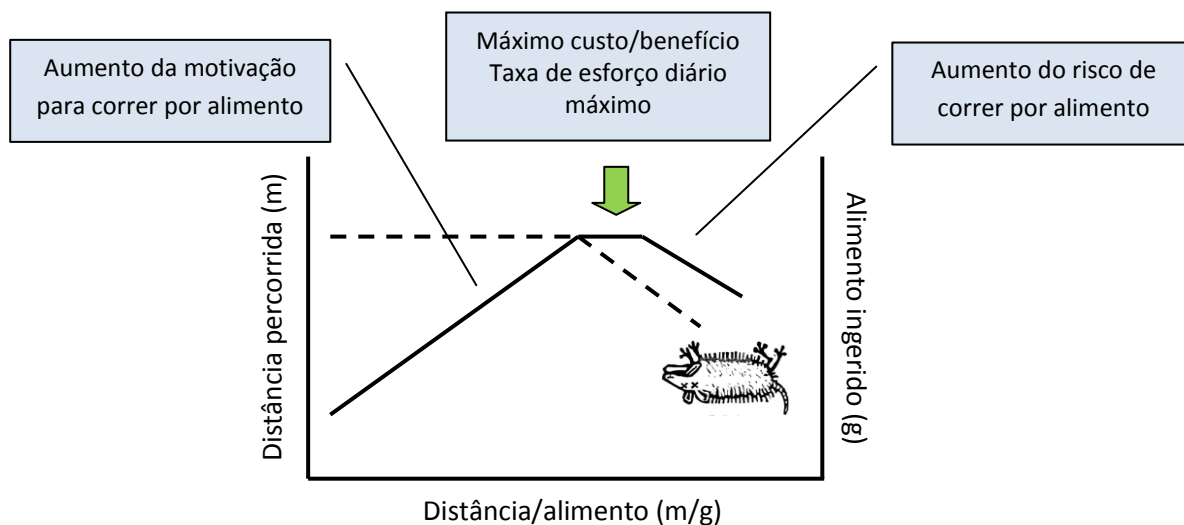


FIGURA 3: Curva hipotética representando a taxa de esforço diário máxima à medida que a distância percorrida/alimento fornecido aumenta. A linha contínua representa a distância percorrida (m) e a linha tracejada representa a quantidade de alimento ingerido (g).

Os animais foram retirados das gaiolas, diariamente, entre 9 e 12h da manhã, e colocados em uma caixa coletiva por aproximadamente duas horas, quando foram realizados os procedimentos de: pesagem, medida da temperatura colônica, coleta dos dados do exercício, medida da ração residual e a limpeza das gaiolas. A medida da temperatura colônica começou a ser realizada no 30º dia do vínculo (FIG. 4).

A pesagem e a medida da temperatura colônica foram realizadas, nesta ordem, em um ambiente com temperatura controlada entre 24 e 26º C. Após esses procedimentos, os animais foram mantidos em outro biotério, na mesma temperatura ambiente, até o término da coleta, sendo então, recolocados nas gaiolas (FIG. 4).

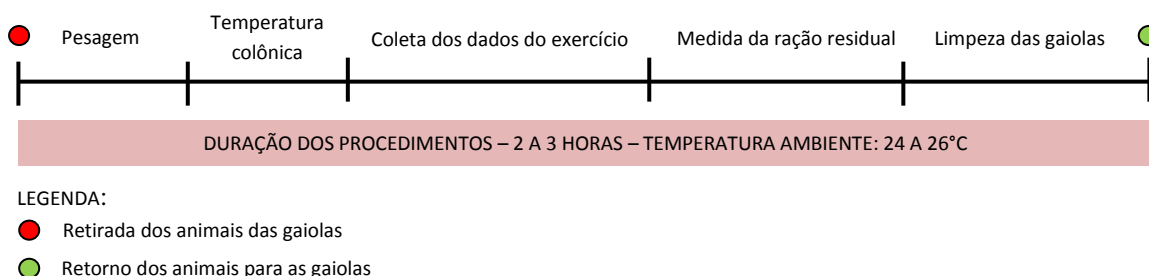


FIGURA 4: Sequência dos procedimentos realizados, diariamente, durante o experimento.

3.3.2. Protocolo 2

Objetivo: Comparar a maior distância percorrida pelos animais em busca de alimento com aquela percorrida sem finalidade aparente.

Protocolo experimental: Com base nos resultados do protocolo 1 fomos capazes de escolher aumentos maiores na distância programada de modo a diminuir o tempo gasto no experimento: de 15% passamos para aumentos de 90%. Além disso, incluímos grupos controle para avaliar o efeito do vínculo.

Quinze ratos Wistar ($287,4 \pm 13,1$ g, média \pm dp) foram submetidos à familiarização e ao teste progressivo na esteira conforme descrito no protocolo 1. Aproximadamente cinco dias após os testes, os animais foram pareados em função da velocidade máxima obtida e divididos em três grupos: exercício vinculado ao alimento (n = 5, CV), exercício sem vínculo ao alimento (n = 5, SV) e sedentários (n = 5, SED).

Todos os animais foram familiarizados às medidas de temperatura colônica por um período de 4 a 6 dias (fase 1). Foram realizadas também, nesse período, as medidas da quantidade de alimento ingerido e da massa corporal (FIG. 5). Após esse período, os animais dos grupos CV e SV foram mantidos por 10 dias no que denominamos de fase 2, e se refere a um período nas gaiolas de atividade, com livre acesso à roda, sem vínculo, para familiarização ao ambiente da gaiola, ao exercício e à caixa de alimentação. No grupo SED, durante a fase 2 os animais foram mantidos em caixas individuais (acrílico, padrão, comprimento 29cm, largura 18cm e altura 12cm), sem acesso ao exercício durante todo o experimento (FIG. 5).

Durante todo o experimento descrito até aqui o alimento foi fornecido *ad libitum* para todos os grupos. Após esse período a quantidade de alimento fornecida foi fixada em função do resultado obtido no período de familiarização na gaiola no grupo CV (fase 2), que foi de, aproximadamente, 24g. Todos os grupos tiveram livre acesso à água durante todo o experimento. A temperatura ambiente foi mantida entre 24 e 26° C.

O período de familiarização na gaiola (fase 2) foi utilizado como parâmetro para o cálculo da distância percorrida por grama de alimento fornecido, como descrito no protocolo 1. A partir dessa situação, a distância percorrida para a obtenção da mesma quantidade de alimento foi progressivamente acrescida em 90%, a cada três dias, até

que os animais atingissem a $TED_{m\acute{a}x}$ (fase 3) (FIG. 6 e tabela 2). Os parâmetros para a determinação da $TED_{m\acute{a}x}$ foram os mesmos descritos no protocolo 1 (FIG. 3). Após a determinação da $TED_{m\acute{a}x}$, os animais foram, novamente, submetidos a um período de familiarização na esteira, por cinco dias, e um teste progressivo foi novamente realizado. A eutanásia dos animais ocorreu de 2 a 3 dias após o teste progressivo (FIG. 5).

A duração total dos procedimentos experimentais foi de 75 dias nos grupos CV e SED e 73 dias no grupo SV (FIG. 5).

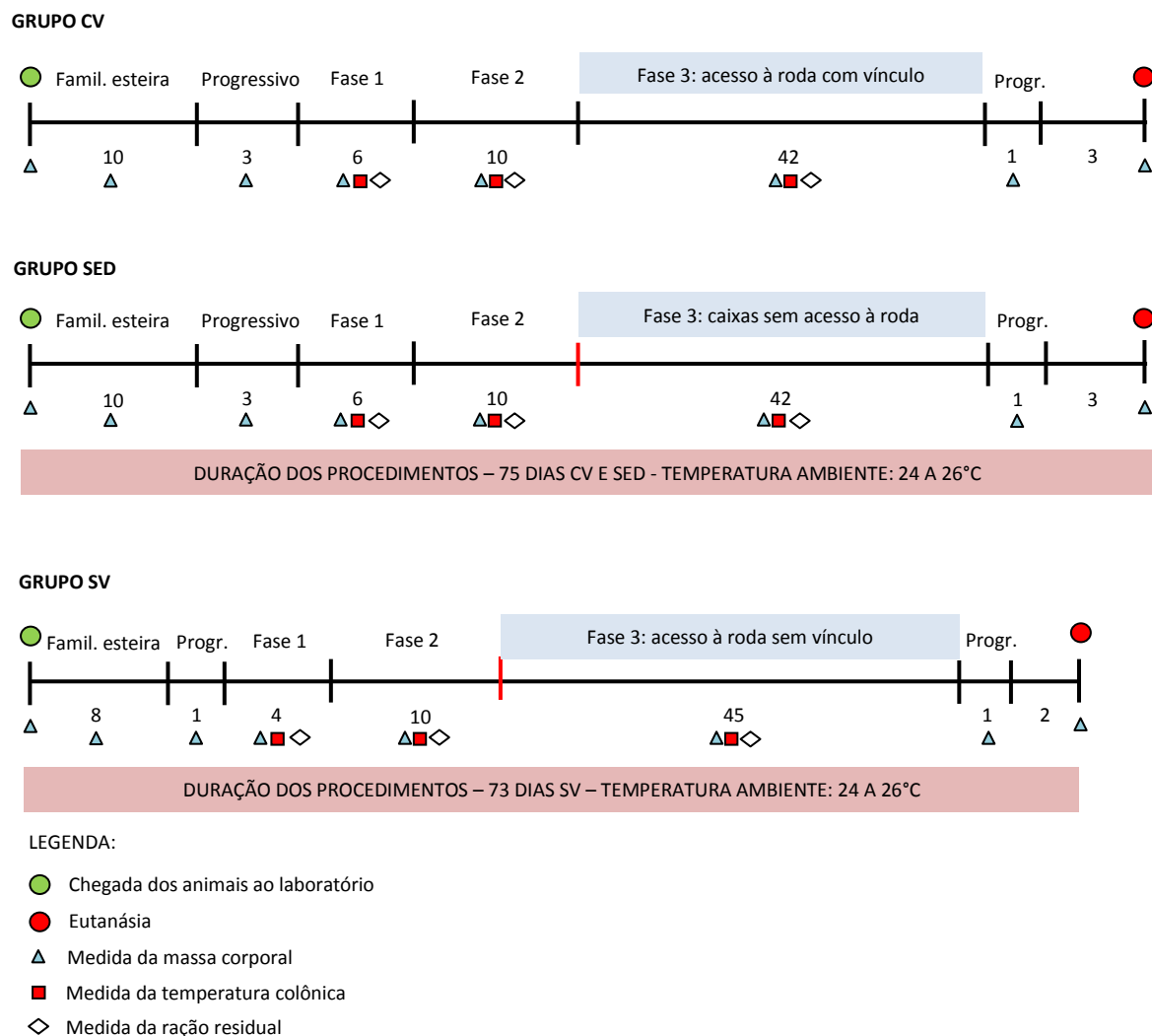


FIGURA 5: Descrição da seqüência temporal dos procedimentos realizados nos grupos com vínculo (CV), sedentários (SED) e sem vínculo (SV).

Temperatura ambiente 24 a 26°C

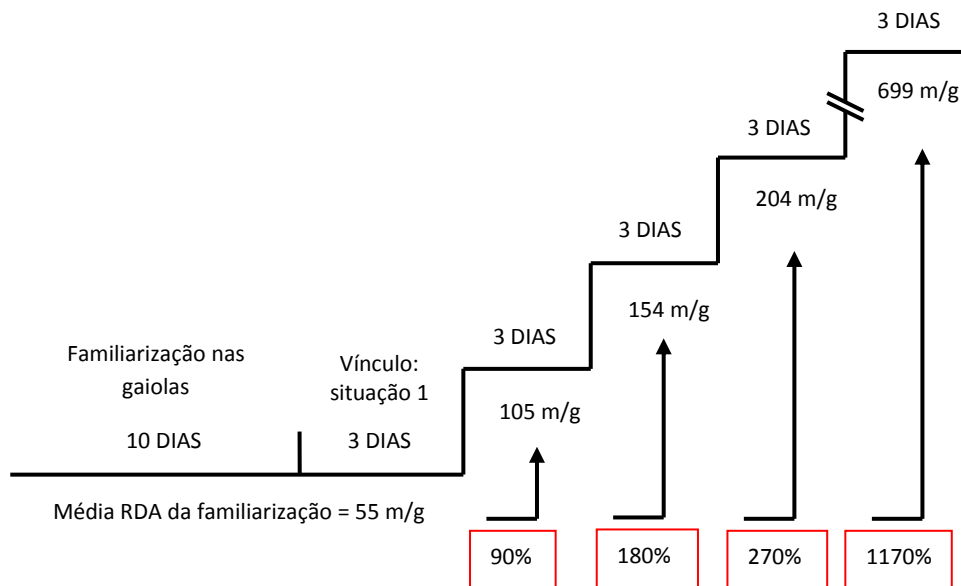


FIGURA 6: Delineamento experimental utilizado no grupo que realizou o exercício na roda vinculado à quantidade de alimento fornecida. RDA: razão entre distância percorrida/alimento fornecido (m/g). A média da RDA obtida na fase 2 (familiarização nas gaiolas) foi de 55 m/g. Este valor foi utilizado para sincronização do fornecimento de alimento em função do exercício realizado nos três primeiros dias com vínculo.

TABELA 2: Descrição dos valores da razão entre a distância e o alimento (RDA) correspondentes aos aumentos programados na distância a partir das situações com vínculo.

DIAS	AUMENTO (%)	RDA (m/pellet)	RDA (m/g)
3	0	220	55
6	90	418	105
9	180	616	154
12	270	814	204
15	360	1012	253
18	450	1210	303
21	540	1408	352
24	630	1606	402
27	720	1804	451
30	810	2002	501
33	900	2200	550
36	990	2398	600
39	1080	2596	649
42	1170	2794	699

Por possuímos cinco gaiolas no período da coleta de dados, os procedimentos experimentais foram realizados em momentos diferentes. Nos grupos CV e SED no

período de 13/01/2012 a 29/03/2012 e no grupo SV no período de 17/09/2012 a 28/11/2012. Os animais do grupo SV foram pareados em função da massa corporal em relação aos outros dois grupos em todas as etapas dos procedimentos pré-experimentais e, por isso, em algumas fases os animais foram mantidos por períodos de tempo diferentes (FIG. 5). As condições ambientais e a sequência dos procedimentos foram mantidas iguais entre os grupos (FIG. 5). Os animais foram retirados das gaiolas, diariamente, entre 9 e 12h da manhã, e colocados em caixas individuais (acrílico, padrão) para a realização das medidas de massa corporal e temperatura colônica, conforme descrito no protocolo 1 (FIG. 4).

3.3.3. Protocolo 3

Este protocolo foi realizado para certificarmos que a temperatura colônica poderia ser utilizada como um indicador da temperatura interna.

Objetivo: Verificar a relação entre a temperatura colônica e a temperatura intraperitoneal.

Protocolo experimental: 7 ratos Wistar ($490,2 \pm 53g$; média \pm dp) foram submetidos a um implante cirúrgico de um sensor de temperatura na cavidade peritoneal e mantidos durante o período de recuperação, em caixas individuais de acrílico padrão, com água e alimento *ad libitum*, em um ambiente com temperatura controlada entre 24 e 26°C e um ciclo claro-escuro de 14-10h, com as luzes acesas das 5h às 19h. A recuperação da massa corporal pré-cirúrgica foi o parâmetro utilizado para o início dos procedimentos experimentais. A sequência temporal dos procedimentos está apresentada na figura 7.

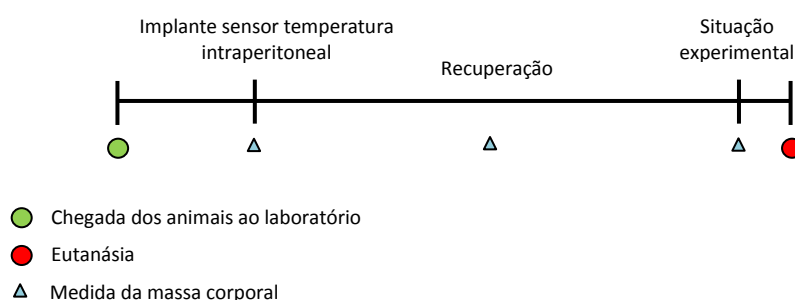


FIGURA 7: Sequência temporal dos procedimentos realizados durante o experimento.

Os procedimentos foram realizados no período entre 17/02/2012 a 23/05/2012, em ambiente com temperatura controlada entre 24 e 26°C. Os animais foram retirados do biotério, pesados e mantidos em caixas individuais, de acrílico padrão, durante todo o experimento. O rato foi contido e a sonda retal foi inserida e fixada manualmente, durante 5 minutos. Após esse período, a sonda foi fixada na cauda do rato e mantida por mais 60 minutos, nos quais os animais podiam se movimentar livremente na caixa. O registro das temperaturas foi realizado a cada minuto. Após os procedimentos experimentais os animais foram eutanasiados.

3.4 – Gaiolas

Desenvolvemos as gaiolas (parceria do Laboratório de Fisiologia do Exercício/UFGM e a GAUSTEC LTDA) com um dispositivo que permite a programação e a sincronização entre a quantidade de exercício realizada pelo animal (distância percorrida ou trabalho) com a quantidade de alimento fornecido (FIG. 8,9 e 10). As gaiolas de atividade são individuais, com dimensões internas de 40 x 40 x 40 cm e dimensões externas de 60 x 60 x 40 cm (altura, comprimento e largura, respectivamente). Possuem uma interface eletrônica para a programação e o armazenamento dos dados (distância e velocidade, *pellets*⁴ devidos e entregues), por hora, além de um dispensador de alimento que tem capacidade para 16 *pellets* (FIG. 9A) que está acoplado a um sensor de luz infravermelha que codifica para a interface quantos *pellets* foram entregues. O dispensador está conectado a uma caixa de aço inox onde o animal tem acesso à ração. Essa caixa possui um fundo falso que permite a separação entre o que foi e o que não foi consumido pelo animal (FIG. 9B). A roda tem 30 cm de diâmetro, 942 mm de circunferência e torque médio para girar a roda de $0,02 \pm 0,004$ N.m (média \pm dp). O sensor de movimento da roda (*encoder*) (FIG. 10) gera os valores de distância e velocidade média independente da direção do movimento.

⁴ *Pellet* se refere a uma quantidade de ração em pó, prensada e seca. Um *pellet* tem em média 4g de ração.

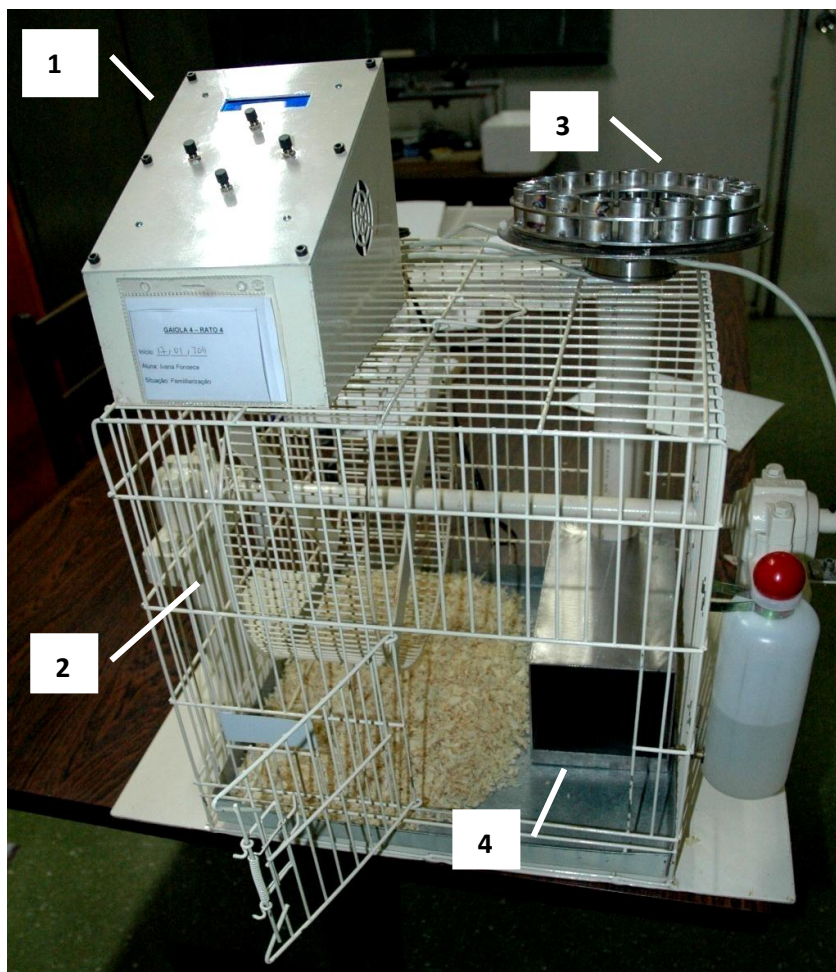


FIGURA 8: Foto da gaiola desenvolvida na primeira fase do projeto que permite sincronização entre o exercício realizado e a quantidade de alimento fornecido (parceria Laboratório de Fisiologia do Exercício da UFMG e GAUSTEC LTDA). **1:** interface eletrônica para programação e armazenamento dos dados por hora (distância e velocidade, *pellets* devidos e entregues); **2:** roda para atividade (30 cm de diâmetro e 942 mm de circunferência); **3:** dispensador eletrônico de alimento; **4:** caixa para fornecimento do alimento. Dimensões internas da gaiola 40 x 40 x 40 cm e dimensões externas de 60 x 60 x 40 cm (altura, comprimento e largura, respectivamente).

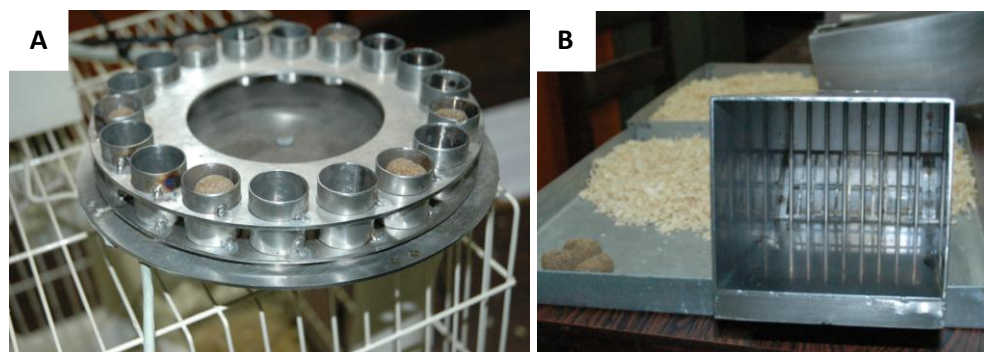


FIGURA 9 - **A:** Foto do dispensador eletrônico de alimento. **B** da caixa para fornecimento da ração.

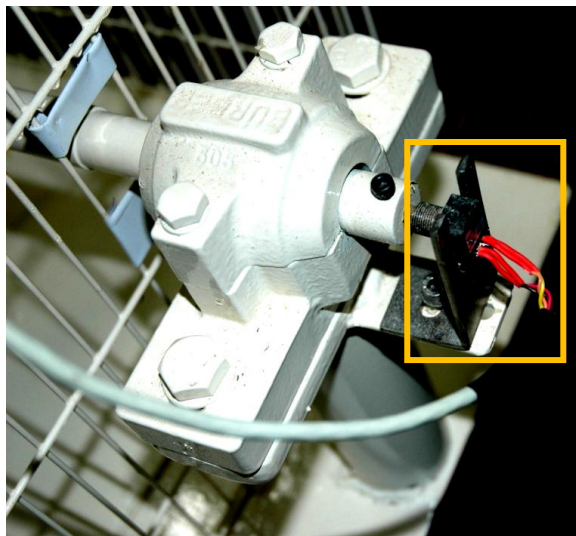


FIGURA 10: No detalhe, foto do sensor de movimento (*encoder*) da roda que codifica o exercício realizado pelo animal.

3.5 - Variáveis medidas e calculadas

3.5.1. Exercício

O exercício foi realizado pelo animal de forma voluntária. Todos os parâmetros relacionados ao exercício (distância, velocidade média e máxima) foram registrados por hora, totalizando 24 registros. Esse registro ocorria todas as vezes que o animal movimentava a roda. A distância e a velocidade média foram determinadas por um transdutor (*encoder*) (FIG. 10) que converte movimentos lineares ou angulares em informações binárias, que foram decodificadas para distância ou velocidade. Os *encoders* possuem internamente um emissor de luz infravermelha direcionada para um ou mais discos perfurados, ligados a um circuito elétrico e dispostos de maneira que o seu movimento resulta em momentos de interrupção da luz. A luz é captada por um receptor que se encontra do outro lado do disco e cada vez que a luz é interrompida gera um pulso. Uma volta na roda (presente na gaiola) gera 256 pulsos. O diâmetro da roda é de 0,3 m e seu perímetro é de 0,942 m. Portanto, para cada pulso que o *encoder* gera, significa que o rato percorreu: $\text{Distância/pulso} = 0,942\text{m}/256 \text{ pulsos} = 0,00368\text{m/pulso}$.

Deste modo, o *encoder* conta os pulsos e o programa converte este sinal em distância percorrida. Para a velocidade instantânea a gaiola totaliza, a cada 199,85ms, a distância que foi percorrida (este tempo foi definido arbitrariamente e medido com um osciloscópio). O cálculo então é feito, conforme exemplo abaixo, no qual foram gerados 36 pulsos no tempo pré-determinado:

- Pulsos gerados em 199,85ms = 36 pulsos
- Distância em 199,85ms = 36 pulsos . 0,00368m/pulso = 0,13248m
- Velocidade = 0,13248m / 0,19985s = 0,66290m/s = 39,77m/min

A gaiola compara continuamente o valor que tem armazenado como máximo com o valor da velocidade instantânea. Caso o valor da velocidade instantânea seja maior que o valor armazenado, esse passa a ser considerado o maior valor, ou seja, a velocidade máxima.

A velocidade média, por sua vez, foi calculada apenas quando a roda estava girando, de modo a evitar uma falsa média. A cada 200 ms a velocidade instantânea foi somada ao valor acumulado (correspondente a outro intervalo de 200 ms) e a média entre esses valores foi considerada como velocidade média.

3.5.2. Alimento

O fornecimento da ração foi dependente da distância percorrida pelos animais do protocolo 1, no período onde o exercício estava vinculado e no grupo CV, no protocolo 2, na fase 3. Em todos os grupos a quantidade máxima (g) de alimento fornecido foi fixada em aproximadamente 24g, que corresponde à média ingerida pelos animais no período da familiarização nas gaiolas do protocolo 1 e na fase 2 do protocolo 2. A quantidade de alimento ingerido foi calculada pela diferença da massa da ração fornecida e do que permaneceu na caixa, conforme descrito por Satvat e Eikelboom (2006); Lattanzio e Eikelboom (2003); Oudot et al. (1996). A restrição calórica foi calculada em relação ao que foi consumido de alimento no período da familiarização nas gaiolas, no protocolo 1 e 2 (fase 2).

A ração fornecida aos animais foi da marca Labina/Purina, indicada para roedores de laboratório (ratos, camundongos e hamsters). A composição da ração e o seu valor energético estão descritos abaixo (TAB. 3):

TABELA 3: Composição da ração fornecida aos animais

NUTRIENTE	COMPOSIÇÃO
Energia (kcal/g)	3,59
Carboidratos (%)	54,63
Lipídeos (%)	5,21
Proteínas (%)	23,85
Cinzas (%)	7,94
Umidade (%)	8,6
Fibras (%)	6,23
Sacarose (g/100g)	37,04
Cálcio (%)	1,4
Fósforo (%)	1,04

Fonte: LACERDA, 2012

3.5.3. Composição corporal

Os animais foram pesados em uma balança eletrônica Filizola, com precisão de 0,5 g durante todos os dias do experimento. A massa corporal foi utilizada como um indicador da saúde do animal e, uma redução de 15 a 20% da massa corporal foi utilizada como critério para a determinação da $TED_{m\acute{a}x}$ (FERGUSON; PAULE, 1995, 1997).

Os tecidos adiposos da região mesentérica, epididimal e retroperitoneal, o tecido adiposo marrom, o coração, o fígado, o gastrocnêmio e o sóleo da pata direita e a glândula adrenal direita foram retirados e pesados em uma balança analítica (Mettler Toledo AL204, com precisão de 0,0001g).

A massa dos tecidos adiposos da região mesentérica (TAM), epididimal (TAE) e retroperitoneal (TAR) foi utilizada para o cálculo do índice de adiposidade (TAYLOR; PHILLIPS, 1996) de acordo com a equação:

$$\text{Índice de adiposidade (\%)} = (TAE + TAR + TAM) \times 100/\text{massa corporal}$$

Este índice apresenta alta correlação com o percentual de gordura do animal (TAYLOR; PHILLIPS, 1996).

O comprimento do fêmur da pata direita foi medido entre a cabeça do fêmur e os côndilos lateral e medial com um paquímetro (Mitutoyo, com precisão de 0,05mm). O comprimento total do animal foi considerada a distância entre a primeira vértebra torácica e a primeira da cauda.

3.5.4. Teste progressivo na esteira

Para medir a velocidade máxima de corrida alcançada pelos animais em um teste progressivo na esteira, os ratos foram submetidos a um período de 5 a 10 dias consecutivos de familiarização com a esteira para pequenos roedores (Columbus Instruments, OH, EUA, Modular Treadmill, protocolo 1 e esteira Gaustec, protocolo 2). Esse período é importante para que os animais aprendam a direção que têm que correr e se acostumem ao ambiente da esteira. Os ratos permaneciam na esteira, por 5 minutos, se movimentando livremente e mais 5 minutos, com a esteira ligada, correndo em uma velocidade de 18 m/min, com 5% de inclinação. O exercício foi motivado por uma corrente elétrica leve (0,5mA) em uma grade localizada na parte posterior da esteira (FIG. 11).

No protocolo 1 foi realizado um teste progressivo na esteira no começo do experimento, antes dos animais serem colocados nas gaiolas de atividade. No protocolo 2 foram realizados dois testes progressivos, após a familiarização na esteira, no começo e no final do experimento. A velocidade inicial foi de 10m/min com aumentos progressivos de 1 m/min a cada dois minutos, até a interrupção voluntária do exercício (KOCH; BRITTON, 2001), definida como o momento em que o animal escolhe permanecer na grade de estímulo elétrico por 10 segundos consecutivos. Esse critério tem sido adotado em estudos do nosso laboratório (LIMA et al., 1998; LIMA et al., 2001; PIRES et al., 2007; SOARES et al., 2003, 2004; WANNER et al., 2007). A velocidade máxima foi aquela alcançada no último estágio completo.

O teste progressivo realizado na esteira foi utilizado para caracterização da amostra e para verificar a relação entre os dois tipos de exercício, o forçado (esteira) e o voluntário na roda, com e sem vínculo.

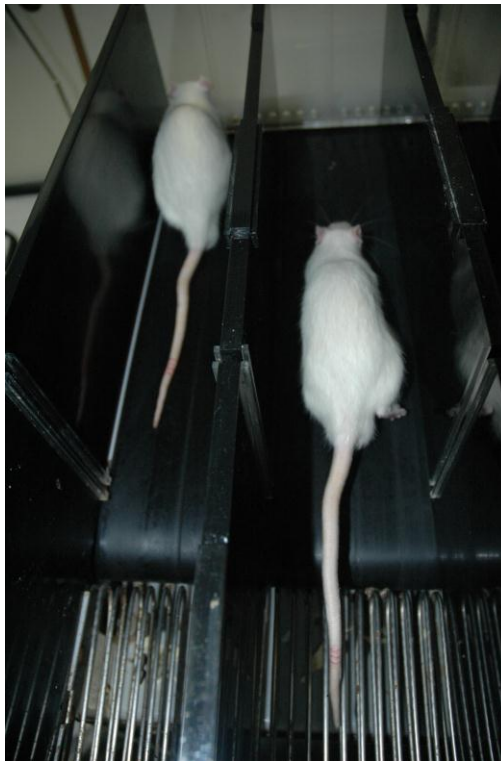


FIGURA 11: Esteira GAUSTEC utilizada para medir a velocidade máxima obtida pelo animal durante o teste progressivo.

3.5.5. Temperatura ambiente

A temperatura ambiente foi controlada por um aparelho de ar condicionado. Para o registro da temperatura seca (valores mínimos e máximos) foi utilizado um termo higrômetro Digital DT-250 (Dellt), de forma contínua durante todo o experimento.

3.5.6. Temperatura colônica

A temperatura colônica foi utilizada como um índice da temperatura corporal interna. No protocolo 1 foi utilizada uma sonda não descartável (Yellow Spring Instruments, series 400 EUA; precisão: 0,1°C) e nos protocolos 2 e 3 foram utilizadas sondas descartáveis (Yellow Spring Instruments, disposable rectal probe series 4400 EUA; precisão: 0,1°C). As sondas foram acopladas a um teletermômetro (Yellow Spring Instruments).

As fezes foram removidas por meio de uma leve massagem externa. A sonda foi lubrificada com vaselina sólida e inserida a 4 cm além do esfíncter anal no protocolo 1 (RODRIGUES et al., 2004), e, a 6 cm nos protocolos 2 e 3. O registro da temperatura colônica foi realizado após 2 minutos da inserção da sonda. A sonda foi inserida a 6 cm no protocolo 2 para evitar possíveis interferências da temperatura ambiente na medida da temperatura colônica.

Nos protocolos 1 e 2 a temperatura colônica foi medida, diariamente, entre 9 e 12h. No protocolo 1 a temperatura colônica começou a ser medida a partir do 30º dia de vínculo (FIG. 1) e no protocolo 2 durante as fase 1, 2 e 3 (FIG. 5).

3.5.7. Temperatura intraperitoneal

O procedimento cirúrgico para o implante do sensor intraperitoneal de temperatura (E-Mitter G2, Mini-Mitter Respiromics, Bend, OR, EUA) foi realizado sob anestesia com ketamina e xilazina (90 e 10,5 mg/kg, respectivamente, intraperitonealmente). Imediatamente após a cirurgia, os ratos receberam dose profilática intramuscular de antibiótico (pentabiótico, 48000 IU/kg de massa corporal) e uma injeção subcutânea de medicação analgésica (banamine, 1,1 mg/kg de massa corporal).

Para o implante, os animais foram posicionados em decúbito dorsal e, após a tricotomia e a assepsia, foram realizadas duas incisões longitudinais no abdômen, com aproximadamente 2 cm, a primeira na pele e a segunda no músculo reto abdominal, ao longo da linha alba. O sensor foi inserido e fixado no músculo reto abdominal. Após o implante do sensor, o músculo e a pele foram suturados. A temperatura intraperitoneal foi registrada por telemetria (placa receptora: ER-4000 energizer/receiver, Mini-Mitter, OR, EUA).

3.6. Eutanásia dos animais

Nos protocolos 1 e 2 os animais foram eutanasiados por decapitação com o uso de uma guilhotina (Insight Equipamentos, Ribeirão Preto, SP, Brasil) após o término dos procedimentos. Este método foi escolhido para que fosse possível a análise de alguns neurotransmissores no cérebro. Tanto o cérebro quanto outros tecidos foram retirados e mantidos em temperatura de -80°C para análises posteriores.

No protocolo 3 os animais foram eutanasiados com uma dose letal de anestésico, três vezes maior àquela utilizada na cirurgia, aplicada na região peritoneal.

3.7. Análise estatística

As respostas avaliadas apresentaram distribuição normal, por isso, foram utilizados testes paramétricos para verificar as possíveis diferenças nas respostas entre as situações e os grupos.

No protocolo 1, para comparar as situações em relação aos parâmetros do exercício (distância e velocidade), quantidade de alimento ingerido, disponibilidade de alimento, massa corporal e temperatura colônica foi utilizada a análise de variância com medidas repetidas com um fator de variação (situações = razão da distância/alimento). No protocolo 2, foi utilizada a análise de variância com medidas repetidas com dois fatores de variação (grupos e dias).

No protocolo 1, para avaliar as diferenças entre as situações (RDA) e os períodos do dia (claro e escuro), foi utilizada a análise de variância com dois fatores de variação (situações e período do dia). No protocolo 2 foram avaliadas somente as diferenças entre os grupos e os dias e, por isso, foi utilizada a análise de variância com medidas repetidas com dois fatores de variação (grupos e dias). Para a análise das diferenças relacionadas aos parâmetros de composição corporal, descrita no protocolo 2, foi utilizada uma análise de variância com um fator de variação (grupos).

Para a comparação dos testes progressivos realizados antes e após o experimento e entre os grupos no protocolo 2, foi utilizada a análise de variância com dois fatores de variação (grupos e pré/pós). O *post hoc* adotado foi de acordo com o coeficiente de variação da resposta avaliada.

Para verificar a relação entre a distância percorrida pelo animal e as situações (razão da distância/alimento) nos protocolos 1 e 2 e, entre as temperaturas no protocolo 3, foi utilizada a correlação de Pearson.

Os dados relacionados aos parâmetros do exercício, que correspondem à média de um período, foram apresentados como média \pm erro padrão. Os dados de composição corporal e temperatura ambiente, que não foram derivados de médias em um determinado período, foram apresentados como média \pm desvio padrão.

Para evitar uma sobreposição de símbolos nos gráficos, no protocolo 2, as diferenças entre os grupos foram apresentadas nos gráficos, mas as diferenças ao longo do tempo, em cada grupo, foram descritas no texto.

O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

3.7.1. Cálculo amostral

O cálculo do número amostral foi feito baseado na distância percorrida pelos animais no protocolo 1, que foi a variável mais instável do experimento, com coeficiente de variação médio de 22%.

Média da distância percorrida nas situações (sem a familiarização) = 5581m

Desvio padrão médio nas situações (sem a familiarização) = 1211m

Fórmula para o cálculo do número amostral (SAMPAIO, 2007):

$n = (2 \cdot s/\Delta)^2$, onde **n** é o número amostral, **s** é o desvio padrão médio e Δ é o intervalo de confiança da média

Oscilação em torno da média = 20%

$$\Delta = 20\% = 20 \times 5581/100 = 1116$$

$$n = [(2 \times 1211) / 1116]^2 = 5 \text{ animais}$$

O cálculo do número amostral poderia ser feito considerando a situação sem vínculo, onde o coeficiente de variação da distância percorrida é maior, alcançando um valor de 76%. Neste caso, utilizando a média da distância percorrida (1498m) e o desvio padrão médio (1149m) do período da familiarização precisaríamos de 59 animais para uma oscilação de 20% em torno da média.

Contudo, como a situação com vínculo é o foco deste trabalho e por termos utilizado o grupo sem vínculo para mostrarmos que os animais não aumentam a distância percorrida sem um propósito, apresentamos os dados de 5 animais em cada grupo.

4. RESULTADOS

4.1. Protocolo 1

A temperatura ambiente foi mantida em $24,8 \pm 1,7^\circ \text{C}$ durante o experimento.

A velocidade máxima obtida no teste progressivo foi de $29,4 \pm 1,5 \text{m/min}$. A duração média foi de $39,6 \pm 2,9 \text{min}$.

A distância percorrida (m) pelos animais aumentou progressivamente em função do aumento da razão distância/alimento programada (m/g) ($p < 0,05$), se estabilizando em $7446 \pm 156 \text{m}$ a partir da situação 302m/g (FIG. 12A).

A massa corporal aumentou progressivamente da familiarização ($250 \pm 4 \text{g}$) até a situação 125m/g ($328 \pm 6 \text{g}$) ($p < 0,05$). Entre as situações 125 a 421m/g não houve alteração da massa corporal ($344 \pm 2 \text{g}$). A partir da situação 480m/g a massa corporal reduziu em comparação ao período de estabilidade ($295 \pm 4 \text{g}$) ($p < 0,05$) (FIG. 12B). A redução da massa corporal da situação 243m/g ($357 \pm 9 \text{g}$) para a situação 539m/g ($286 \pm 9 \text{g}$) foi equivalente a 20%. A situação 539m/g foi definida como a $\text{TED}_{\text{máx}}$.

A quantidade de alimento fornecida aos animais após o período da familiarização na gaiola até o final do experimento foi de $24,6 \pm 0,1 \text{g/dia}$.

O aumento da razão entre distância/alimento provocou redução de aproximadamente 31% na quantidade de alimento ingerido a partir da situação 480m/g ($16,0 \pm 0,4 \text{g}$) em comparação com as situações: familiarização, 66 e 125m/g ($23,1 \pm 0,5 \text{g}$; $p < 0,05$) (FIG. 12C).

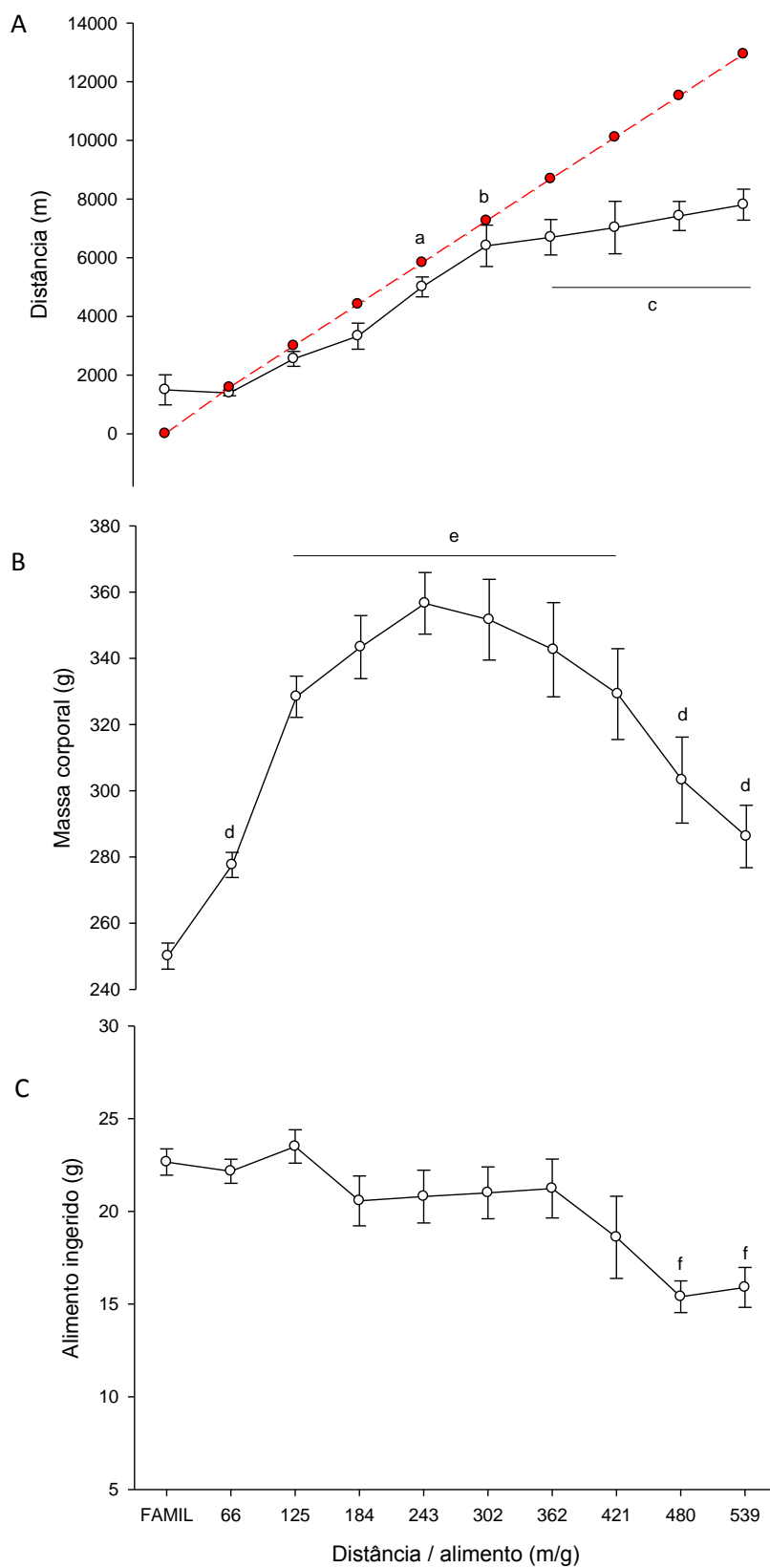


FIGURA 12: Variáveis medidas no período da familiarização nas gaiolas (FAMIL) em função da razão entre a distância e o alimento (m/g). A) distância média percorrida (m); B) massa corporal (g); C) quantidade de alimento ingerida (g). A linha pontilhada em vermelho no gráfico A representa a distância

que deveria ser percorrida para obter 24g de alimento. A letra “a” indica diferença das situações FAMIL e 66 m/g; a letra “b” indica diferença das situações FAMIL, 66, 125 e 184m/g; a letra “c” indica diferença das situações FAMIL, 66, 125, 184 e 243m/g; a letra “d” indica diferença da FAMIL; a letra “e” indica diferença das situações FAMIL, 66, 480 e 539m/g e a letra “f” indica diferença das situações FAMIL, 66 e 125m/g ($p < 0,05$).

Houve uma forte correlação positiva ($r = 0,86$; $p = 1,38 \times 10^{-14}$) entre a distância percorrida pelo animal e a razão distância/alimento programada, com coeficiente de determinação (r^2) de 0,73 (FIG. 13).

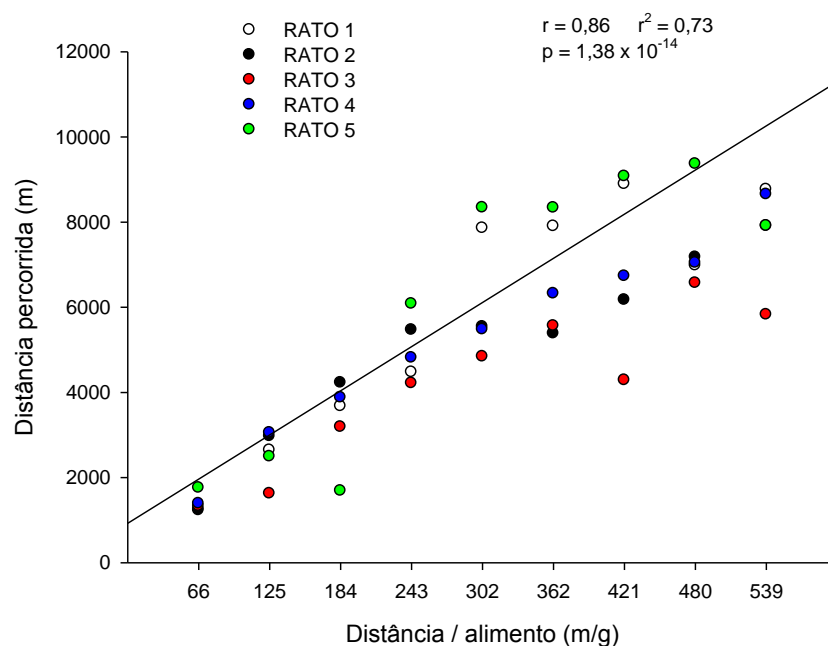


FIGURA 13: Relação entre distância percorrida (m) e razão entre distância/alimento programada na gaiola (m/g).

O vínculo entre o exercício e o alimento reduziu em 81% o coeficiente de variação da distância percorrida pelo animal durante a familiarização (77%) em relação à primeira situação (15%). O coeficiente de variação médio da distância percorrida para as demais situações foi de 22%. Não houve efeito do vínculo na variação da quantidade de alimento ingerido (7% na familiarização e 6% nos três primeiros dias com vínculo) (FIG. 14). O coeficiente de variação médio da quantidade de alimento ingerido foi de 17% para as demais situações. A média da distância percorrida e da quantidade de alimento ingerido na familiarização e na situação 1 foi de $1498 \pm 514m$; $23 \pm 1g$ e $1392 \pm 95m$; $23 \pm 1g$, respectivamente.

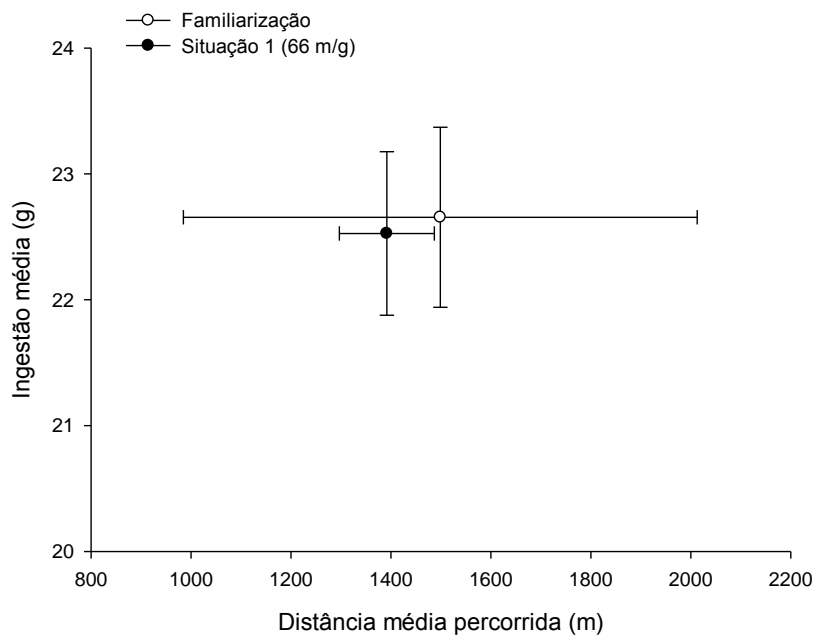


FIGURA 14: Quantidade de alimento ingerido (g) em função da distância média percorrida (m) pelos animais, durante a familiarização e na primeira situação com vínculo (66 m/g).

A restrição calórica provocada pelo aumento da razão entre a distância/alimento programada (m/g) foi maior nas situações 480 e 539m/g ($29 \pm 2\%$) em comparação às situações 66, 125, 184, 243, 302 e 362m/g ($8 \pm 2\%$) ($p < 0,05$) (FIG. 15).

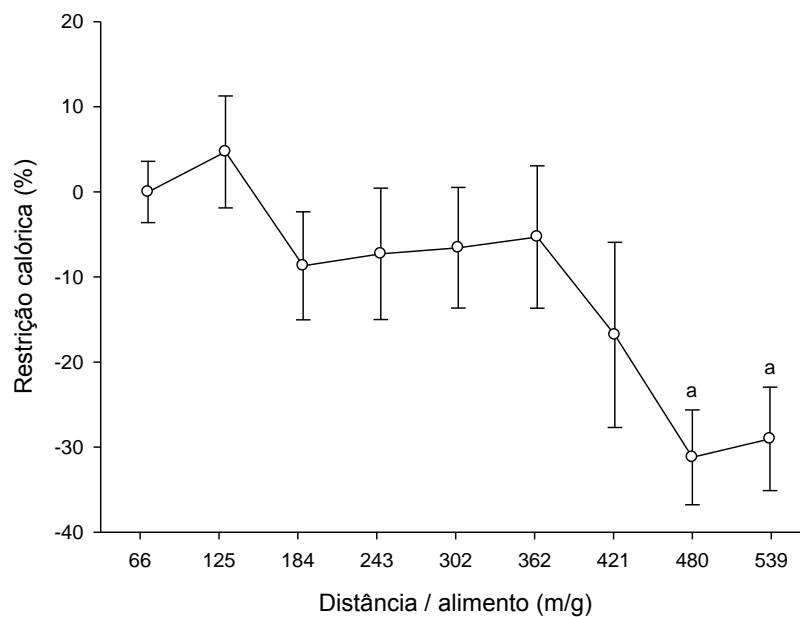


FIGURA 15: Restrição calórica (%) em função da razão entre distância/alimento programada na gaiola (m/g). “a” indica diferença de 66, 125, 184, 243, 302 e 362m/g; ($p < 0,05$).

A distância percorrida pelos animais aumentou somente na fase escura, nas situações 302 e 539m/g em comparação a familiarização e a situação 66m/g (4986 ± 893 e 5291 ± 1920 m vs 1694 ± 528 m e 1628 ± 109 m; $p < 0,05$) (FIG.16).

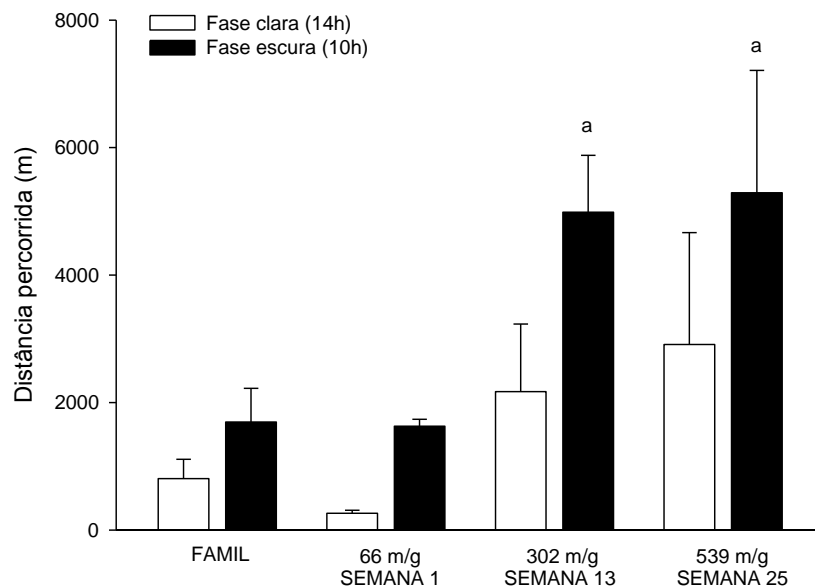


FIGURA 16: Distância percorrida (m) na fase clara e escura, nas situações: familiarização (FAMIL), 66, 302 e 539m/g. “a” indica diferença da familiarização (FAMIL) e de 66m/g na fase escura; ($p < 0,05$).

A velocidade média (m/min) foi maior após o vínculo entre exercício e alimento (21 ± 2 para 26 ± 2 m/min; $p < 0,05$), mas não houve alteração com o aumento progressivo da razão entre distância/alimento programada (29 ± 1 m/min) (FIG. 17). Os animais percorreram distâncias maiores, mas sem aumentar a velocidade média.

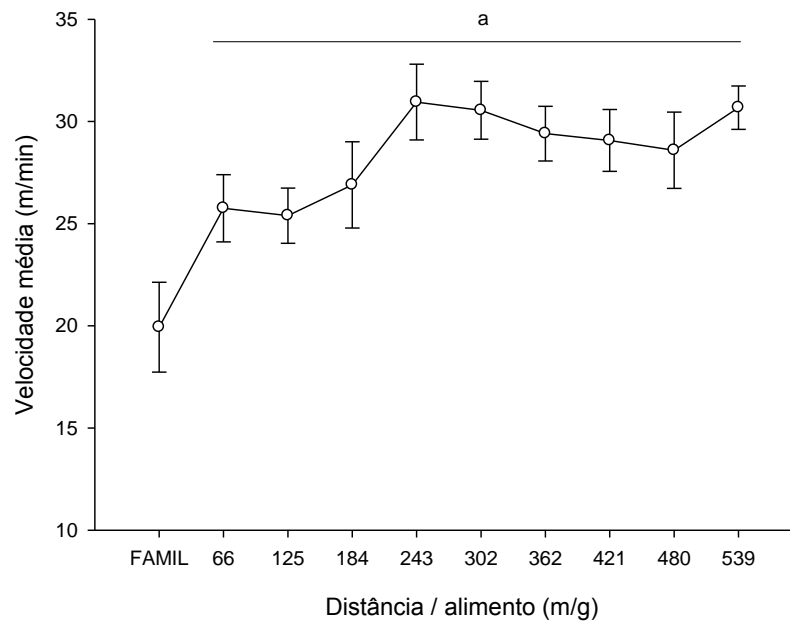


FIGURA 17: Velocidade média (m/min) em função da razão entre distância/alimento programada na gaiola (m/g). “a” indica diferença da familiarização (FAMIL); ($p < 0,05$).

A velocidade média (m/min) foi maior na fase escura em todas as situações em comparação com o mesmo período na familiarização (30 ± 1 vs 22 ± 1 m/min, respectivamente). Na fase clara, a velocidade média aumentou na situação 302m/g em comparação à familiarização (26 ± 2 vs 14 ± 1 m/min, respectivamente; $p < 0,05$) e na situação 529m/g em comparação à familiarização e à situação 66m/g (28 ± 2 vs 14 ± 1 e 19 ± 2 m/min, respectivamente; $p < 0,05$). Os animais correram numa velocidade média maior na fase escura em comparação à fase clara em todas as situações (27 ± 1 vs 19 ± 1 m/min, respectivamente; $p < 0,05$), exceto na situação 539m/g (30 ± 2 vs 28 ± 2 m/min, respectivamente) (FIG. 18).

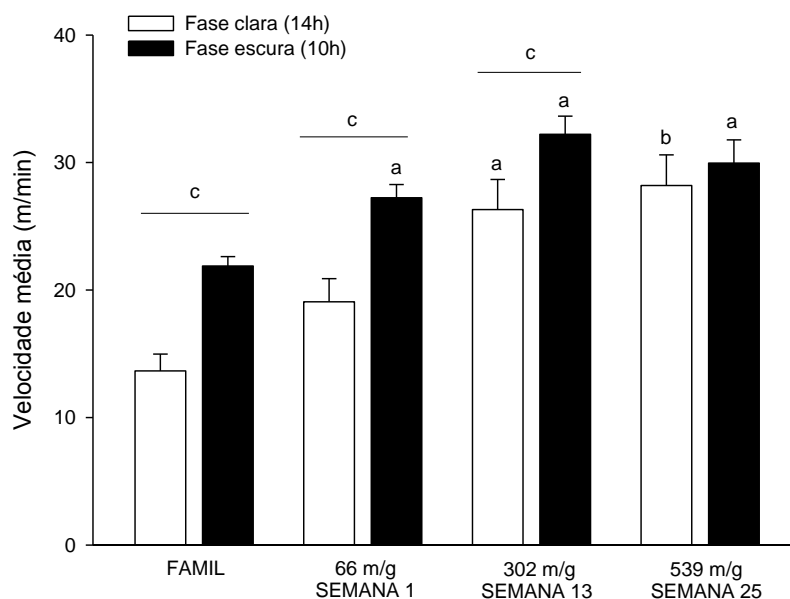


FIGURA 18: Velocidade média (m/min), na fase clara e escura, nas situações: familiarização (FAMIL), 66, 302 e 539m/g. “a” indica diferença de FAMIL em relação ao mesmo período do dia; “b” indica diferença de FAMIL e de 66m/g em relação ao mesmo período do dia e “c” indica diferença entre claro e escuro; ($p < 0,05$).

Em comparação à velocidade máxima obtida no teste progressivo, a velocidade média mantida pelos animais durante o exercício na roda foi de $68 \pm 6\%$ na familiarização e nas outras situações foi em média $103 \pm 1\%$. Este aumento em comparação à familiarização ocorreu já na primeira situação com vínculo e se manteve até a última situação. O pico ocorreu nas situações 243, 302 e 539m/g, atingindo valores de $111 \pm 7\%$; $109 \pm 5\%$ e $110 \pm 4\%$, respectivamente). Estas situações foram maiores que a familiarização e que a situação 66m/g ($87 \pm 3\%$; $p < 0,05$) (FIG.19).

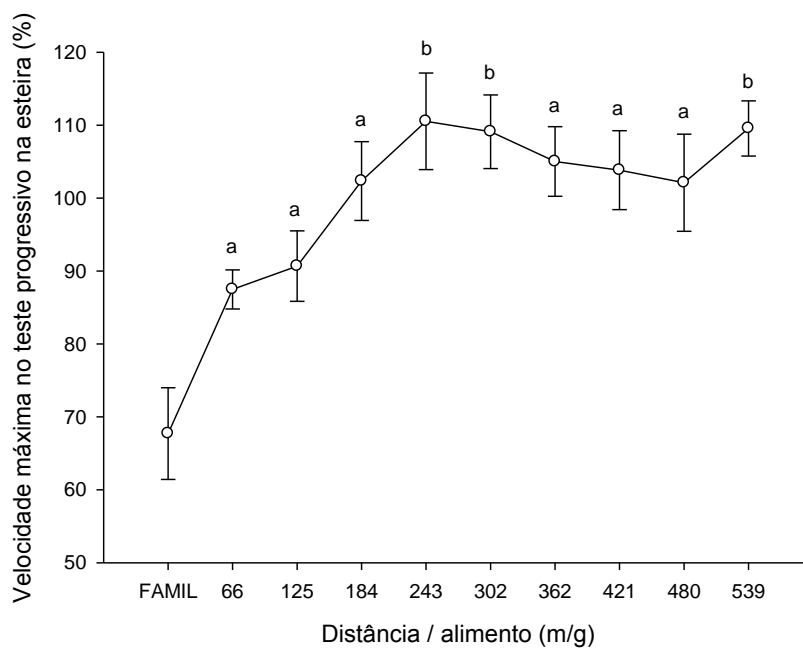


FIGURA 19: Percentual da velocidade máxima obtida no teste progressivo (%) em função da razão entre distância/alimento programada na gaiola (m/g). “a” indica diferença da familiarização (FAMIL) e “b” indica diferença de FAMIL e de 66m/g; ($p < 0,05$).

A temperatura colônica reduziu de $37,1 \pm 0,1^\circ \text{C}$ nas situações 154, 184 e 243m/g para $36,2 \pm 0,1^\circ \text{C}$ a partir da situação 302m/g ($p < 0,05$) (FIG. 20).

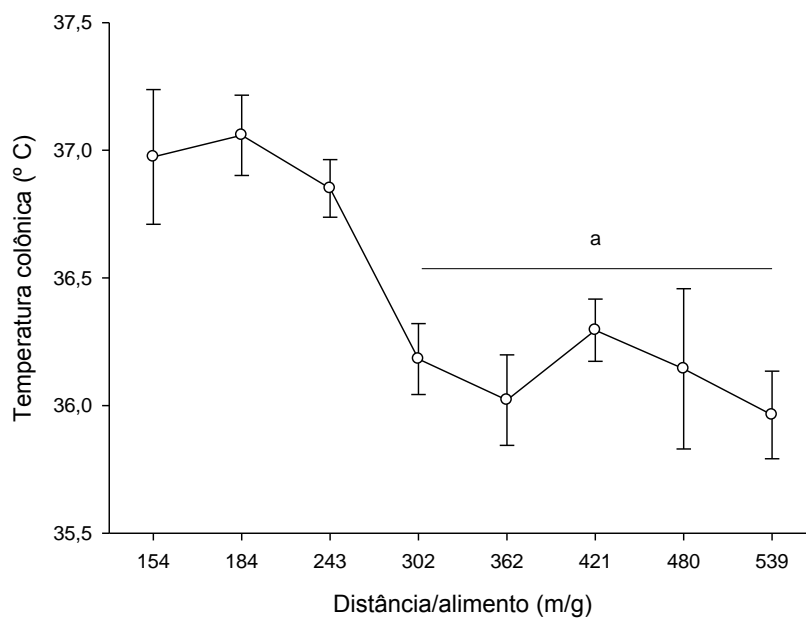


FIGURA 20: Temperatura colônica ($^\circ \text{C}$) em função da razão entre distância/alimento programada na gaiola (m/g). “a” indica diferença de 154, 184 e 24m/g; ($p < 0,05$).

4.2. Protocolo 2

A temperatura ambiente foi mantida em $24,2 \pm 1,4^{\circ}\text{C}$ durante o experimento.

A velocidade máxima e a duração obtida nos testes progressivos na esteira não apresentou interação entre os grupos e as situações pré/pós. Não houve diferença entre os grupos, mas a velocidade máxima e a duração foram menores no teste realizado após os experimentos, em todos os grupos (TAB. 4).

Um rato não correu em nenhum dos progressivos realizados e, por isso, foi colocado no grupo sedentário. Três ratos (ratos 12, 14 e 16) correram no máximo 3 minutos no teste progressivo realizado após o experimento.

TABELA 4: Velocidade máxima (m/min) e duração (min) dos testes progressivos realizados antes (pré) e após (pós) o experimento

	VELOCIDADE		DURAÇÃO	
	PRÉ	PÓS	PRÉ	PÓS
CV	31,0 ± 3,9	16,6 ± 5,9*	42,0 ± 7,9	14,2 ± 11,2*
SV	29,0 ± 4,1	22,4 ± 10,1*	38,8 ± 7,8	25,8 ± 20,4*
SED	27,3 ± 8,3	25,6 ± 18,4*	34,5 ± 16,6	31,8 ± 36,2*

Dados apresentados como média ± desvio padrão. CV: grupo com vínculo; SV: grupo sem vínculo e SED: grupo sedentário. * indica diferença entre as condições pré e pós ($p < 0,05$).

O grupo CV aumentou, progressivamente, a distância percorrida em função do aumento da razão entre a distância e o alimento (de $1311 \pm 275\text{m/dia}$ na fase 2 para $9037 \pm 1033\text{m/dia}$ na última situação com vínculo, um aumento de 589%, $p < 0,05$). Não houve diferença na distância percorrida pelo grupo SV ao longo do experimento (FIG. 21A).

A diferença entre os grupos SV e CV na distância percorrida se deu desde a primeira até a última situação com vínculo (628 ± 165 vs $1397 \pm 229\text{m/dia}$, na primeira situação com vínculo e 1621 ± 782 vs $9037 \pm 1033\text{m/dia}$ na última situação com vínculo, nos grupos SV e CV, respectivamente, $p < 0,05$) (FIG. 21A).

O vínculo entre a atividade física e o alimento fornecido reduziu o coeficiente de variação na distância percorrida por dia pelo grupo CV em comparação com a fase 2 (familiarização sem vínculo) (47% vs 24%), mas no grupo SV houve um aumento da variação entre a fase 2 e a fase 3 (37% vs 59%).

A massa corporal aumentou progressivamente nos grupos SV (295 ± 7 g na fase 1 para 407 ± 12 g na última situação com vínculo, em torno de 38% de aumento) e SED (de 311 ± 7 g na fase 1 para 422 ± 9 g na última situação com vínculo, em torno de 35% de aumento) ($p < 0,05$) (FIG. 21B).

No grupo CV, a massa corporal aumentou até a primeira situação com vínculo ($p < 0,05$) quando permaneceu estável até o dia 24. A partir do dia 27, a massa corporal reduziu progressivamente e foi menor que a fase 1 a partir do dia 39 ($p < 0,05$). A diferença na massa corporal entre o período de estabilidade e a última situação com vínculo foi de 16%, determinando, portanto, a $TED_{máx}$ (FIG. 21B).

A massa corporal foi menor no grupo CV em comparação ao grupo SED somente nos dias 9 e 12. A partir do 15º dia o grupo CV apresentou valores significativamente menores do que os grupos SV e SED ($p < 0,05$). Na última situação essa diferença correspondeu a 34% e 31% em relação aos grupos SED e SV, respectivamente. Não houve diferença entre os grupos SV e SED ao longo do experimento (FIG. 21B).

A quantidade de alimento fornecida aos animais durante a fase 3 até o final do experimento foi de $23,70 \pm 0,28$ g/dia para o grupo CV, $24,30 \pm 0,01$ g/dia para o grupo SED e $24,8 \pm 0,01$ g/dia para o grupo SV.

Os animais dos grupos SV e SED ingeriram, em média, $24,7 \pm 0,1$ e $24,2 \pm 0,1$ g/dia, respectivamente, sem variação ao longo do tempo. A quantidade de alimento ingerida no grupo CV reduziu, progressivamente, ao longo do experimento, em função do aumento da distância para a obtenção do alimento (de $25,0 \pm 0,9$ g/dia durante a fase 1 para $13,8 \pm 1,0$ g/dia na última situação com vínculo, $p < 0,05$) (FIG. 21C).

O grupo CV ingeriu menos alimento do que os outros grupos nos primeiros três dias do vínculo e a partir do 15º dia ($18,0 \pm 3,0$ vs $24,2 \pm 0,3$ vs $24,6 \pm 0,2$ g/dia nos três primeiros dias do vínculo e $17,7 \pm 0,7$ vs $24,7 \pm 0,1$ vs $24,2 \pm 0,1$ g/dia à partir do 15º dia nos grupos CV, SV e SED, respectivamente; $p < 0,05$). Na fase 2 os grupos CV e SV ingeriram menor quantidade de alimento que o grupo SED ($24,6 \pm 1,1$ vs $24,6 \pm 0,9$ vs $29,2 \pm 0,5$ g/dia nos grupos CV, SV e SED, respectivamente; $p < 0,05$). Não houve diferença entre os grupos SED e SV nos outros dias do experimento (FIG. 21C).

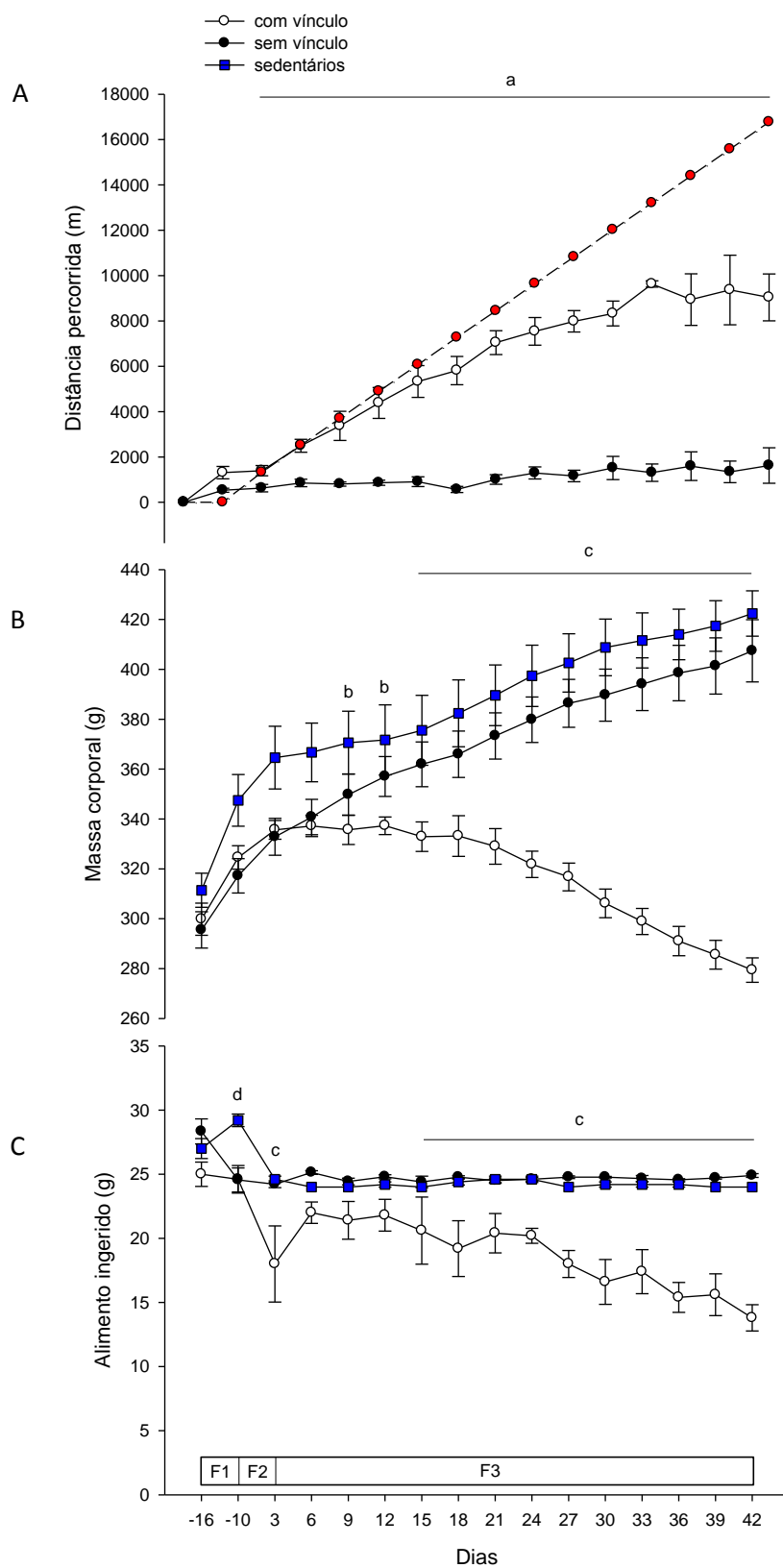


FIGURA 21: Variáveis medidas na fase 1 (-16), na fase 2 (-10) e a cada três dias (fase 3), nos grupos com vínculo, sem vínculo e sedentários. A) distância média percorrida; B) massa corporal; C) quantidade de alimento ingerida. A linha pontilhada no gráfico A representa a distância que deveria ser percorrida

pelo animal para obter 24g de alimento. A barra horizontal paralela ao eixo X indica as fases do experimento (F1 – fase 1; F2 – fase 2 e F3 – fase 3). A letra “a” indica diferença entre os grupos com vínculo e sem vínculo, a letra “b” indica diferença entre os grupos com vínculo e sedentário; a letra “c” indica diferença entre o grupo com vínculo e os demais; a letra “d” indica diferença entre o grupo sedentário e os demais ($p < 0,05$).

A temperatura colônica no grupo CV reduziu em torno de $1,4^{\circ}\text{C}$ na última situação com vínculo quando comparada com na fase 2 ($37,8 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ para $36,4 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$, respectivamente; $p < 0,05$). Essa redução ocorreu de forma progressiva até o dia 27, quando aumentou, no dia 36, e reduziu novamente, nos dias 39 e 42 ($p < 0,05$). Os dias 21 e 36 não são diferentes entre si, mas são diferentes dos dias 24, 27, 30, 33, 39 e 42 (FIG. 22).

No grupo SV, houve uma redução da temperatura colônica a partir do dia 3 ($37,5 \pm 0,03^{\circ}\text{C}$) em relação aos períodos -16 e -10 ($38,1 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$), permanecendo constante até o final do experimento ($p < 0,05$) (FIG. 22).

Houve uma redução de aproximadamente $0,5^{\circ}\text{C}$ na temperatura colônica no grupo SED nos dias 21, 24, 27, 30 e 36 ($37,2 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$; $p < 0,05$) quando comparados com os dias -16, -10, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 33, 39 e 42 ($37,7 \pm 0,04^{\circ}\text{C}$).

O vínculo da atividade física com o alimento provocou diferenças nas respostas da temperatura colônica entre os grupos. A temperatura colônica foi quase 1°C menor no grupo CV em comparação com os outros grupos a partir do dia 24 até o final do experimento ($36,5 \pm 0,1$ vs $37,3 \pm 0,1$ vs $37,5 \pm 0,04^{\circ}\text{C}$ nos grupos CV, SED e SV, respectivamente; $p < 0,05$). Esta diferença foi observada também nos dias 15 e 18 entre os grupos CV e SED ($p < 0,05$). Não houve diferença entre os grupos SED e SV (FIG. 22).

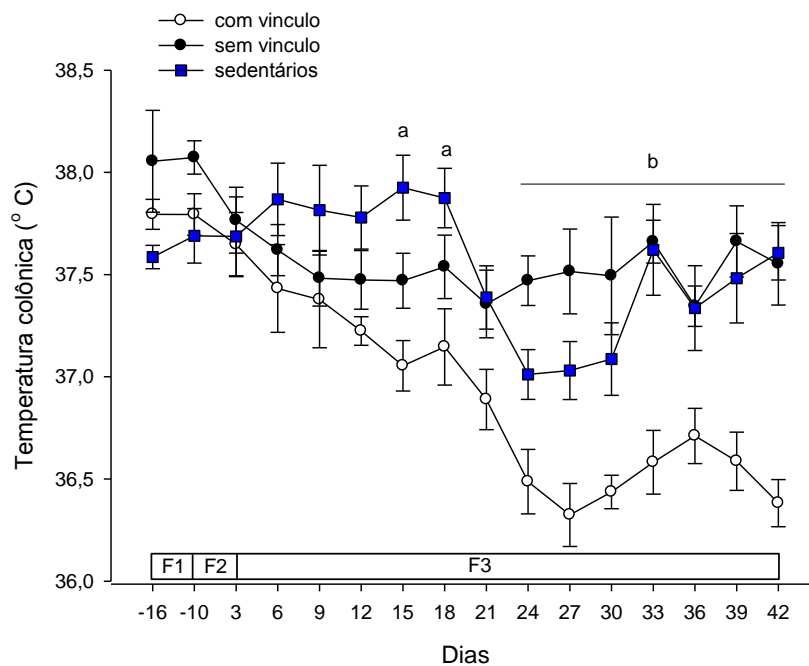


FIGURA 22: Temperatura colônica (°C) medida na fase 1 (-16), na fase 2 (-10) e a cada três dias (fase 3), nos grupos com vínculo, sem vínculo e sedentários. A barra horizontal, paralela ao eixo X, indica as fases do experimento (F1 – fase 1; F2 – fase 2 e F3 – fase 3). “a” indica diferença entre os grupos com vínculo e sedentários. A letra “b” indica diferença entre o grupo com vínculo e os demais ($p < 0,05$).

Houve uma forte correlação positiva e significativa entre a distância programada na gaiola e a distância percorrida pelos animais ($r = 0,86$; $p = 2,44 \times 10^{-19}$), com coeficiente de correlação (r^2) igual a 0,73 (FIG. 23).

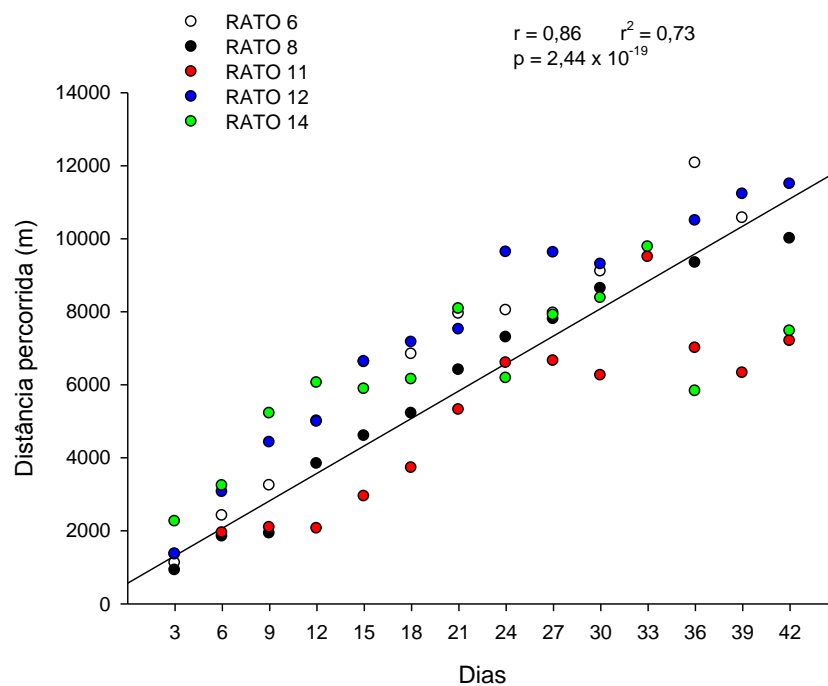


FIGURA 23: Relação entre distância percorrida (m) e razão entre distância/alimento programada na gaiola (m/g) no grupo CV, durante a fase 3.

No grupo CV houve uma redução acentuada da disponibilidade de alimento no dia 3, mas, houve um aumento no dia 6 que se manteve constante até o dia 27 ($16,4 \pm 2,0\%$). Após este período de estabilidade houve uma redução progressiva, alcançando um valor de $43,4 \pm 5,0\%$ na disponibilidade de alimento no dia 42. Não houve alteração ao longo do experimento nos grupos SV e SED ($0,9 \pm 0,2\%$ vs $17,0 \pm 0,2\%$, respectivamente) (FIG. 24).

Houve diferença entre os grupos CV e SV nos dias 3, 15, 18, 24, e de 27 a 42. Entre os grupos SV e SED houve diferença ao longo de quase todo o experimento, exceto nos dias 3, 9 e 21 (FIG. 24).

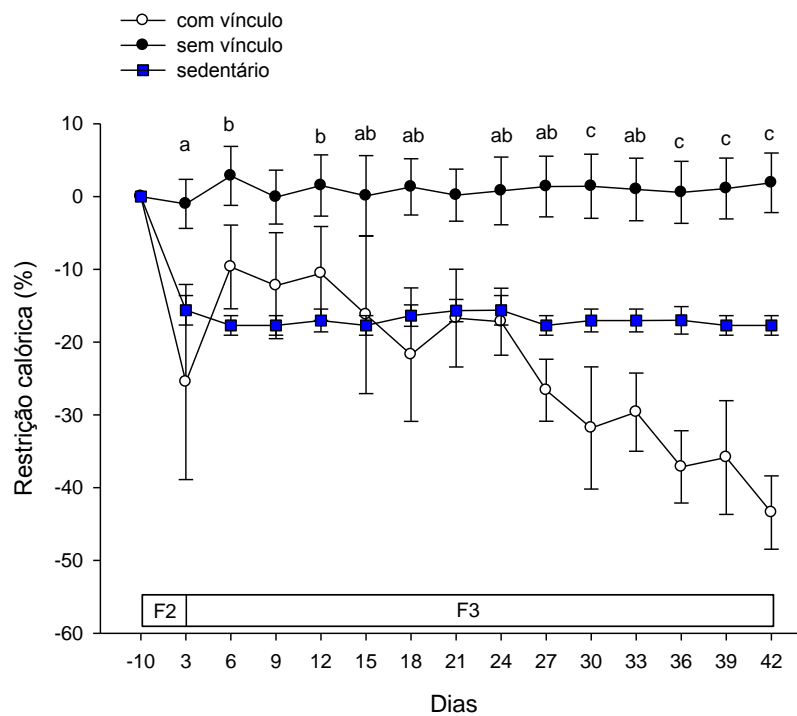


FIGURA 24: Relação entre a disponibilidade de alimento (%), na fase 2 (-10) e a cada três dias (fase 3), nos grupos com vínculo, sem vínculo e sedentários. A barra horizontal, paralela ao eixo X, indica as fases do experimento (F2 – fase 2 e F3 – fase 3). “a” indica diferença entre os grupos com e sem vínculo. A letra “b” indica diferença entre os grupos sem vínculo e sedentários e a letra “c” indica diferença entre todos os grupos ($p < 0,05$).

A velocidade média aumentou, progressivamente, no grupo CV, ao longo do experimento (de $18,4 \pm 2,1$ m/min na fase 2 para $35,2 \pm 3,3$ m/min na última situação com vínculo; $p < 0,05$). No grupo SV houve um aumento da fase 2 para o 6º dia ($10,1 \pm 2,1$ vs $15,3 \pm 1,6$ m/min, respectivamente; $p < 0,05$), mas depois se manteve constante ($20,3 \pm 0,5$ m/min) (FIG. 25A).

A velocidade média foi maior no grupo CV em comparação ao grupo SV durante todo o experimento ($30,4 \pm 1,0$ vs $19,3 \pm 0,8$ m/min, valores médios sem a fase 2; $p < 0,05$) (FIG. 25A).

A velocidade máxima não se alterou ao longo do experimento no grupo CV ($81,6 \pm 1,7$ m/min). No grupo SV, a velocidade máxima aumentou, progressivamente, da fase 2 até o 6º dia de experimento ($50,8 \pm 12,0$ vs $86,0 \pm 13,5$ m/min, respectivamente; $p < 0,05$). Após esse período não houve alteração na velocidade máxima ($99,5 \pm 1,2$ m/min) (FIG. 25B).

A velocidade máxima foi maior no grupo CV durante a fase 2, em comparação com o grupo SV ($71,9 \pm 3,1$ vs $50,8 \pm 12,0$ m/min nos grupos CV e SV, respectivamente; $p < 0,05$), mas foi menor nos dias 27, 33, 36, 39 e 42 ($77,0 \pm 1,4$ vs $102,2 \pm 1,1$ m/min nos grupos CV e SV, respectivamente; $p < 0,05$) (FIG. 25B).

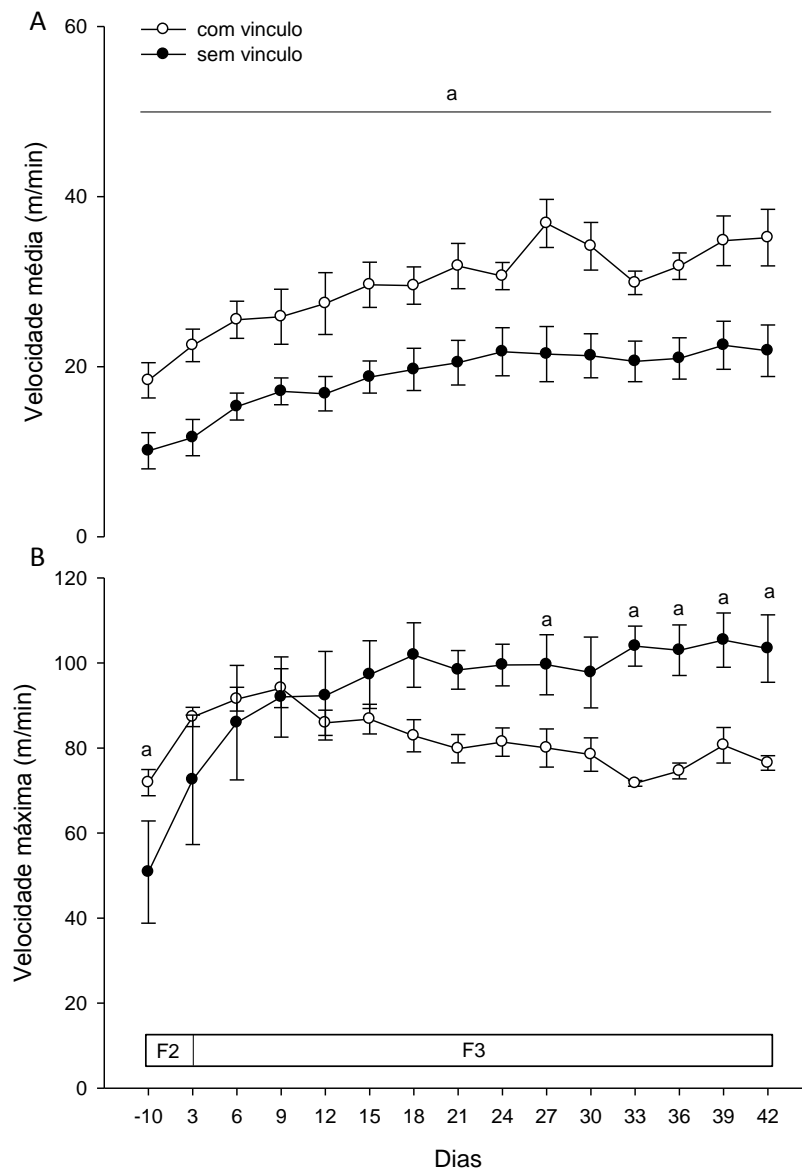


FIGURA 25: Velocidade média (A) e máxima (B) (m/min), na fase 2 (-10) e a cada três dias (fase 3), nos grupos com vínculo e sem vínculo. A barra horizontal, paralela ao eixo X, indica as fases do experimento (F2 – fase 2 e F3 – fase 3). “a” indica diferença entre os grupos ($p < 0,05$).

A distância percorrida na fase clara pelo grupo CV aumentou, progressivamente, em função do aumento da razão entre a distância e o alimento (de 139 ± 44 m/dia na fase 2

para 6881 ± 619 m/dia na última situação com vínculo; $p < 0,05$). Não houve alteração na distância percorrida na fase clara pelo grupo SV (20 ± 7 m/dia na fase 2 para 88 ± 43 m/dia no 42º dia) (FIG. 26A).

Houve diferença entre os grupos CV e SV na distância percorrida na fase clara ao longo de todo experimento. Na última situação a diferença entre os dois grupos foi de 7719% ($p < 0,05$) (FIG. 26A).

Na fase escura, a distância percorrida pelo grupo CV aumentou em torno de 298% da fase 2 (1146 ± 243 m/dia) até o 24º dia (4560 ± 828 m/dia) ($p < 0,05$). Após este período houve uma redução progressiva, alcançando, na última situação com vínculo, uma distância semelhante àquela percorrida na fase 2 (2260 ± 498 m/dia). No grupo SV a distância percorrida durante a fase escura não se alterou ao longo do experimento (de 412 ± 243 m/dia na fase 2 para 1517 ± 760 m/dia no dia 42) (FIG. 26B).

Houve diferença entre os dois grupos em todos os dias do experimento, exceto nos dias 33, 36 e 42 (FIG. 26B).

O coeficiente de variação na distância percorrida foi menor no grupo CV em comparação ao grupo SV, nos dois períodos do dia. Na fase clara o coeficiente de variação foi de 99 e 34% e na fase escura foi de 57 e 40% nos grupos SV e CV, respectivamente.

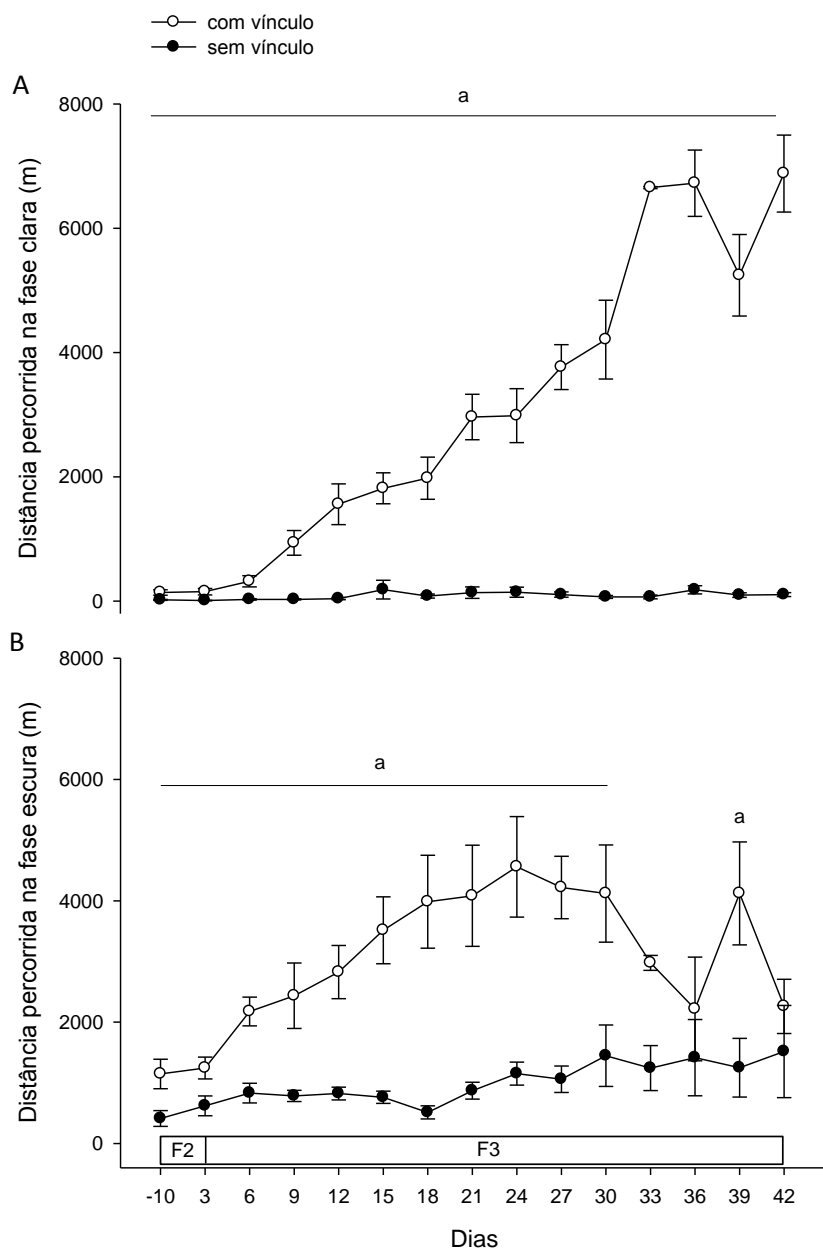


FIGURA 26: Distância percorrida (m) na fase clara (A) e escura (B), na fase 2 (-10) e a cada três dias (fase 3), nos grupos com vínculo e sem vínculo. A barra horizontal, paralela ao eixo X, indica as fases do experimento (F2 – fase 2 e F3 – fase 3). “a” indica diferença entre os grupos ($p < 0,05$).

A velocidade média na fase clara, no grupo CV, foi menor durante a fase 2 e na primeira situação com vínculo ($15,2 \pm 2,2\text{m/min}$) em comparação com os outros dias com vínculo ($32,0 \pm 1,2\text{m/min}$; $p < 0,05$) (FIG. 27A). No grupo SV, a velocidade média na fase clara foi maior nos dias 21, 24, 39 e 42 ($18,0 \pm 0,4\text{m/min}$) em comparação à fase 2 e ao dia 3 ($8,0 \pm 0,9\text{m/min}$; $p < 0,05$) (FIG. 27A). O grupo CV realizou o exercício numa velocidade média maior que o grupo SV ao longo de todo o

experimento, exceto na fase 2 ($31,1 \pm 1,4$ vs $14,5 \pm 0,9$ m/min, respectivamente) (FIG. 27A).

Na fase escura, a velocidade média foi menor durante a fase 2 no grupo CV em comparação aos dias com vínculo ($19,3 \pm 2,2$ vs $28,4 \pm 0,7$ m/min, respectivamente; $p < 0,05$) (FIG. 27B). No grupo SV, a velocidade média foi menor durante a fase 2 e no dia 3 em comparação aos outros dias ($11,5 \pm 0,8$ vs $21,0 \pm 0,7$ m/min, respectivamente; $p < 0,05$) (FIG. 27B). Não houve diferença entre os grupos somente nos dias 9, 24, 33, 36 e 39 (FIG. 27B).

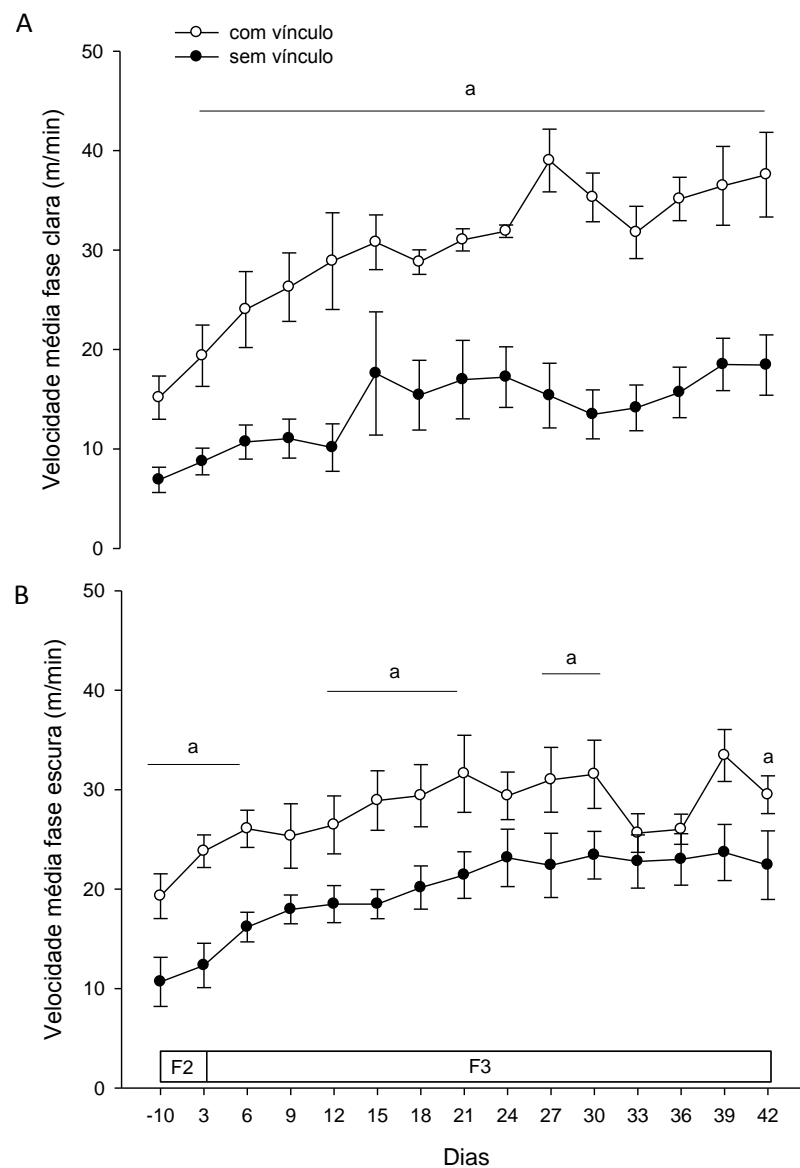


FIGURA 27: Velocidade média (m/min) na fase clara (A) e na escura (B), na fase 2 (-10) e a cada três dias (fase 3), nos grupos com vínculo e sem vínculo. A barra horizontal, paralela ao eixo X, indica as fases do experimento (F2 – fase 2 e F3 – fase 3). “a” indica diferença entre os grupos ($p < 0,05$).

A velocidade média mantida pelos animais no grupo CV representou valores progressivamente maiores em relação à velocidade máxima obtida no teste progressivo na esteira. Nos dias 27, 30, 39 e 42 a velocidade média foi 15% maior do que a velocidade máxima obtida no teste progressivo na esteira (35 ± 1 vs 31 ± 2 m/min, respectivamente). No grupo SV, a velocidade média mantida pelos animais na roda foi menor do que a velocidade máxima obtida na esteira, ao longo de todo o experimento. Houve aumento em relação aos dias -10 e 3, a partir do dia 6, mas os valores permaneceram relativamente constantes, em torno de $68 \pm 2\%$. Houve diferença entre os dois grupos ao longo de todos os dias, exceto no dia 33.

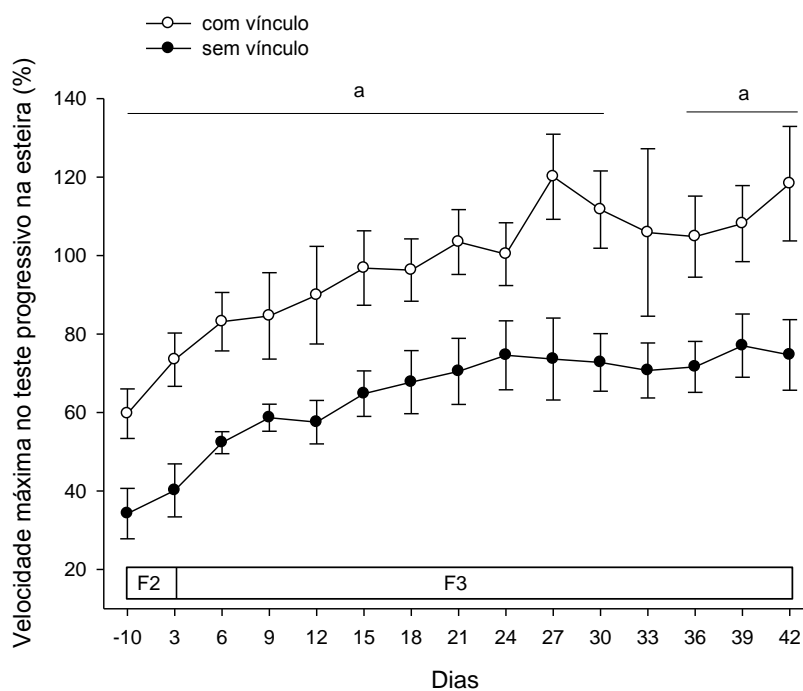


FIGURA 28: Percentual da velocidade máxima obtida no teste progressivo (%), na fase 2 (-10) e a cada três dias (fase 3), nos grupos com vínculo e sem vínculo. A barra horizontal, paralela ao eixo X, indica as fases do experimento (F2 – fase 2 e F3 – fase 3). “a” indica diferença entre os grupos ($p < 0,05$).

Os animais do grupo CV apresentaram massas menores do tecido adiposo marrom e do tecido adiposo das regiões epididimal, retroperitoneal e mesentérica, do fígado, do coração, do gastrocnêmio direito em comparação aos grupos SV e SED. O comprimento do fêmur direito também foi menor no grupo CV em comparação aos grupos SV e SED. A glândula adrenal direita foi maior no grupo SV em comparação

aos outros grupos. Não houve diferença entre os grupos na massa do sóleo e do fêmur direito (TAB. 5).

O exercício vinculado ao fornecimento de alimento não alterou o comprimento final dos animais ($16,3 \pm 1,0$ vs $17,2 \pm 1,0$ vs $16,3 \pm 0,9$ cm nos grupos CV, SV e SED, respectivamente).

O índice de adiposidade foi menor no grupo CV em comparação aos grupos SV e SED (TAB. 5).

TABELA 5: Massa corporal (g) no dia da eutanásia e massa úmida (g) dos tecidos, comprimento do fêmur (cm) e índice de adiposidade (%)

	CV	SV	SED
MASSA CORPORAL	269,2 ± 15,7	413,4 ± 29,6*	426,9 ± 17,2*
TECIDO ADIPOSEO MARROM	0,19 ± 0,02	0,32 ± 0,11*	0,35 ± 0,09*
TECIDO ADIPOSEO EPIDIDIMAL	1,2 ± 0,4	5,7 ± 1,7*	5,8 ± 1,6*
TECIDO ADIPOSEO RETROPERITONEAL	0,3 ± 0,2	5,4 ± 2,2*	4,1 ± 1,6*
TECIDO ADIPOSEO MESENTÉRICO	0,3 ± 0,1	2,3 ± 0,6*	2,5 ± 0,9*
FIGADO	7,50 ± 1,73	12,52 ± 1,08*	12,10 ± 0,89*
CORAÇÃO	0,94 ± 0,10	1,34 ± 0,13*	1,22 ± 0,11*
GASTROCNÊMIO DIREITO	1,66 ± 0,16	2,57 ± 0,16**	2,25 ± 0,07*
SÓLEO DIREITO	0,15 ± 0,02	0,19 ± 0,03	0,16 ± 0,04
ADRENAL DIREITA	0,02 ± 0,01	0,03 ± 0,01**	0,02 ± 0,01
FÊMUR DIREITO	1,57 ± 0,25	1,46 ± 0,30	1,66 ± 0,30
COMPRIMENTO FD	3,76 ± 0,05	3,92 ± 0,07*	3,99 ± 0,1*
ÍNDICE DE ADIPOSIDADE	0,64 ± 0,25	2,96 ± 0,78*	3,15 ± 1,03*

Dados apresentados como média ± desvio padrão. CV: grupo com vínculo; SV: grupo sem vínculo; SED: grupo sedentário; FD.: fêmur direito. * indica diferença de CV; ** indica diferença de CV e SED ($p < 0,05$).

Quando a massa dos tecidos foi relativizada pela massa corporal dos animais no dia da eutanásia, não houve diferença entre os grupos no tecido adiposo marrom, no fígado e na adrenal direita. A massa do coração e do sóleo direito do grupo CV foi maior em comparação ao grupo SED. A massa do gastrocnêmio direito foi maior nos grupos CV e SV em comparação ao grupo SED. As diferenças no tecido adiposo das regiões epididimal, mesentérica e retroperitoneal foram mantidas, com o grupo CV apresentando os menores valores em relação aos outros dois grupos (SV e SED) (TAB. 6).

Não houve diferença entre os grupos quando o comprimento do fêmur direito foi relativizado pelo comprimento total do animal e nem quando a massa do fêmur direito foi relativizada pelo seu comprimento (TAB. 6).

TABELA 6: Razão entre a massa úmida dos tecidos e a massa corporal no dia da eutanásia, comprimento do fêmur relativizado pelo comprimento total do animal

	CV	SV	SED
TECIDO ADIPOSEO MARROM	0,72 ± 0,07	0,77 ± 0,24	0,81 ± 0,20
TECIDO ADIPOSEO EPIDIDIMAL	4,46 ± 1,40	13,98 ± 2,94*	13,47 ± 4,07*
TECIDO ADIPOSEO RETROPERITONEAL	1,08 ± 0,67	9,75 ± 3,24*	12,61 ± 5,15*
TECIDO ADIPOSEO MESENTÉRICO	0,94 ± 0,49	5,91 ± 1,83*	5,47 ± 1,54*
FIGADO	27,73 ± 5,51	30,30 ± 1,67	28,38 ± 2,20
CORAÇÃO	3,49 ± 0,45	3,24 ± 0,27	2,85 ± 0,23*
GASTROCNÊMIO DIREITO	6,17 ± 0,40	6,23 ± 0,12	5,28 ± 0,30**
SÓLEO DIREITO	0,57 ± 0,06	0,46 ± 0,06	0,38 ± 0,12*
ADRENAL DIREITA	0,07 ± 0,02	0,07 ± 0,01	0,05 ± 0,02
COMPRIMENTO FÊMUR DIREITO/COMP. TOTAL	0,23 ± 0,01	0,23 ± 0,01	0,24 ± 0,01
MASSA FÊMUR DIREITO/COMPRIMENTO FD.	0,42 ± 0,07	0,37 ± 0,07	0,42 ± 0,07

Dados apresentados como média ± desvio padrão, multiplicados por 1000. CV: grupo com vínculo; SV: grupo sem vínculo; SED: grupo sedentário; COMP. TOTAL.: comprimento total do animal; FD.: fêmur direito.* indica diferença de CV; ** indica diferença de CV e SV ($p < 0,05$).

4.3. Protocolo 3

Houve correlação positiva entre as temperaturas colônica e intraperitoneal quando o animal foi contido e a sonda mantida manualmente, por dois minutos ($r = 0,84$; $r^2 = 0,70$; $p < 0,05$) (FIG. 29A) e por 60 minutos, sem contenção, com a sonda fixada na cauda do animal ($r = 0,68$; $r^2 = 0,46$; $p < 0,05$) (FIG. 29B).

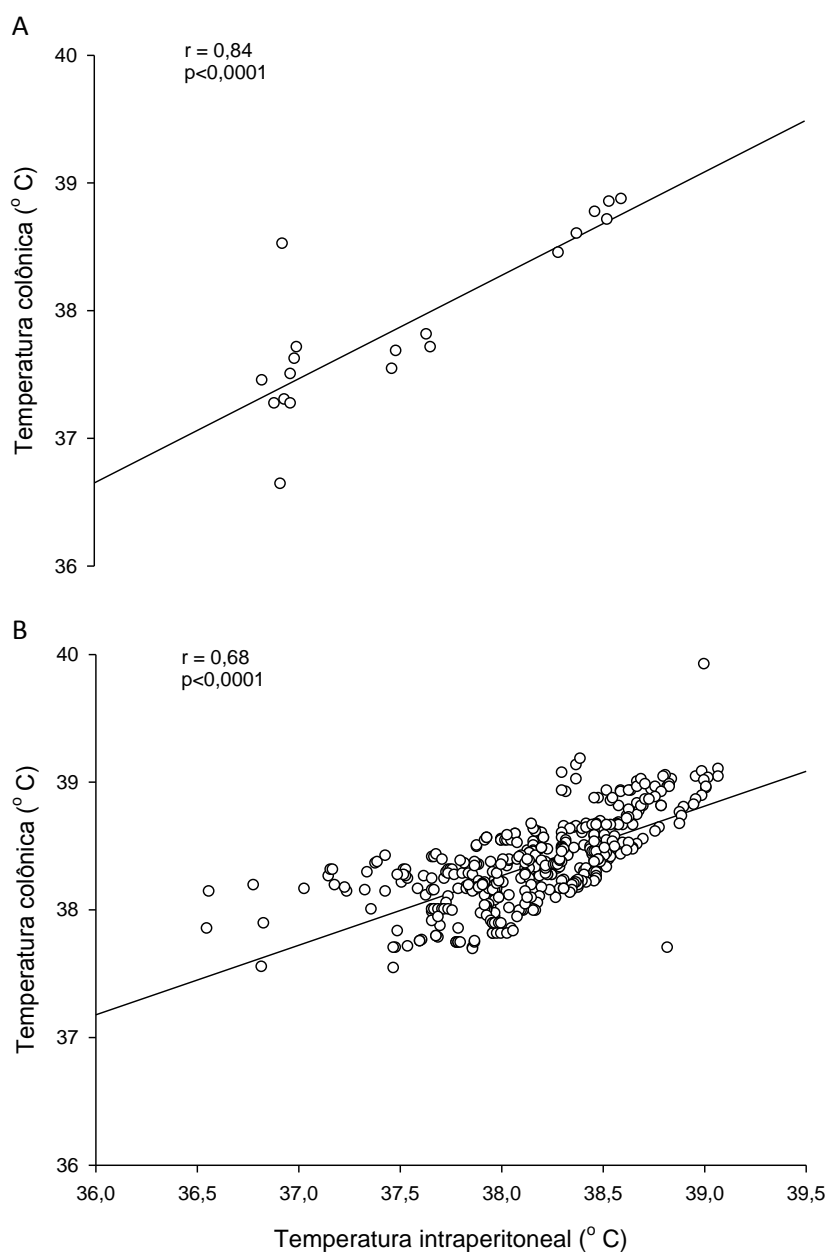


FIGURA 29: Correlação entre as temperaturas colônica e intraperitoneal (°C) durante dois minutos com contenção e fixação manual da sonda (A) e durante 60 minutos sem contenção e fixação da sonda na cauda do animal (B).

5. DISCUSSÃO

No presente estudo avaliamos os efeitos do exercício físico sobre a composição corporal de ratos quando a obtenção de alimento está vinculada à realização da atividade física. Em comparação ao exercício não vinculado à alimentação, o vínculo resultou em 1) aumento da distância percorrida diariamente; 2) mudança do ciclo circadiano da atividade; 3) estabilização seguida de diminuição da massa corporal; 4) redução do tecido adiposo; e, 5) diminuição da temperatura interna de repouso. Muitos desses resultados foram observados nos protocolos 1 e 2. Discutiremos a seguir os efeitos do vínculo em cada um dos aspectos mencionados. Comentaremos também sobre as diferenças entre o protocolo forçado na esteira e o exercício realizado na roda, vinculado ou não ao fornecimento de alimento.

5.1. Efeito do vínculo nos parâmetros do exercício

Os resultados desta pesquisa demonstram que ao vincularmos a obtenção de alimento à realização de atividade física foi encontrada correlação positiva entre estes parâmetros, assim como se espera que aconteça em condições naturais (KAUFMAN; COLLIER, 1983). Independente da duração do protocolo experimental (147 dias protocolo 1 vs. 42 dias protocolo 2) foi encontrada forte correlação entre a distância programada e a distância percorrida pelos animais (FIG. 13 e 23). Estes dados indicam que o método vinculado permite ao experimentador controlar precisamente a distância a ser percorrida diariamente pelo animal manipulando a relação entre a quantidade de alimento fornecido em função da distância. Além disso, foi verificado que 1) a quantidade de exercício realizado voluntariamente pelo animal é 5 vezes maior quando a atividade física está vinculada à obtenção de alimento; 2) a motivação para o exercício, demonstrada pela maior distância percorrida diariamente, é maior nos animais submetidos ao vínculo; 3) os animais alcançam a estabilidade da massa corporal, em comparação ao ganho progressivo dos animais sem o vínculo. Estes achados nos mostram, portanto, que é possível simular em laboratório as condições naturais de realização do exercício físico. O uso deste modelo experimental pode

modificar a compreensão dos impactos do exercício físico sobre os sistemas orgânicos. Dessa forma, o método pode ser útil para o estudo de diversas questões pertinentes à fisiologia do exercício, como controle da massa corporal e atividades físicas, termorregulação e exercício, gravidez e atividade física, sono e atividade física, dentre outras.

Outra observação importante do presente estudo foi que o aumento progressivo da distância programada a ser percorrida pelo animal para a obtenção do alimento, durante 42 dias, reduziu a variabilidade da distância percorrida diariamente pelos ratos. Nessa direção, vários trabalhos têm mostrado que quando não há vínculo entre a atividade e o alimento, as distâncias percorridas por roedores podem apresentar altos coeficientes de variação (CHAPPELL et al., 2004, 2007). Lambert e Noakes (1990), por exemplo, observaram que as distâncias percorridas por ratos variaram entre de 3,3 e 76 km/semana.

As diferenças em alguns fatores, tais como, na idade (MONDON et al., 1985), no sexo (REZENDE et al., 2006), na capacidade aeróbica (LAMBERT; NOAKES, 1990) e na disponibilidade de alimento (KANAREK et al., 2009) podem alterar as distâncias percorridas pelos animais, mas as variações dentro do grupo observadas nesse comportamento parecem ser independentes desses fatores (EISENMANN et al., 2009). No presente trabalho, quando o exercício na roda foi vinculado ao fornecimento de alimento, a variabilidade na distância percorrida apresentou uma redução de 85 e 49% nos protocolos 1 e 2, respectivamente, quando comparado ao período da familiarização nas gaiolas (fase 2 para o protocolo 2). O coeficiente de variação também foi menor no grupo CV se comparado ao grupo SV. Esta redução na variabilidade da distância percorrida sugere que os animais de uma mesma espécie/linhagem percorrem distâncias mais similares quando são motivados a correr por um estímulo mais natural, como a disponibilidade de alimento e, que, esse comportamento pode ser independente de algumas das diferenças citadas acima, como o sexo e a idade, das capacidades intrínsecas dos animais e das adaptações físicas provocadas por elas (VAANHOLT et al., 2007). Dessa maneira, nossos resultados mostram que o método vinculado diminuiu a interferência dos fatores intrínsecos e extrínsecos sobre o exercício realizado pelos animais. Em casos de escassez de alimento ou em função de desafios ambientais e de predação essas diferenças no sexo, na idade e na capacidade intrínseca

do animal podem ser mais determinantes para a sobrevivência dos indivíduos melhor adaptados.

Em relação ao método mundialmente usado para o estudo do exercício físico em animais, o exercício forçado na esteira, é interessante compararmos o coeficiente de variação do tempo total durante este tipo de exercício com aquele da distância percorrida encontrado no presente estudo. Em estudos prévios do nosso laboratório, encontramos um coeficiente de variação de 42% no tempo total durante o exercício constante na esteira a 18m/min (PIRES et al., 2007), um exercício moderado para ratos Wistar, comparado ao coeficiente de aproximadamente 20% na distância total percorrida no grupo CV do presente trabalho. É, portanto, razoável assumirmos que há menor interferência extrínseca e intrínseca na motivação do animal quando o exercício está vinculado à obtenção de alimentos em comparação ao estímulo elétrico comumente usado durante os protocolos de exercício forçado.

Na natureza, em algumas espécies, a relação entre a atividade física e os comportamentos relacionados à reprodução, ao forrageamento, à fuga de predadores, dentre outros, é essencial para a sobrevivência do animal. Em laboratório, os animais com livre acesso à roda, sem vínculo com a alimentação, realizam a atividade sem motivo aparente. Este comportamento também foi observado nesta investigação, nos grupos SV e CV.

Nos grupos que foram submetidos ao vínculo, nos protocolos 1 e 2, os coeficientes de correlação entre a distância programada e a percorrida indicam que 73%, das alterações observadas na distância percorrida se devem a mudanças na distância programada. No entanto, em torno de 30% da motivação para o exercício não podem ser explicados pela necessidade de obtenção do alimento. Os animais do grupo SV percorreram distâncias médias de 1068 ± 95 m por dia, alcançando valores máximos de 1621 ± 782 m/dia na última situação do experimento, após 42 dias de acesso à roda.

Em uma revisão extensa sobre o tema, Sherwin (1998) apresenta diversos trabalhos que mostram que animais de várias espécies, dentre elas, gatos, coelhos, aves e raposas, com acesso livre à roda, fazem o exercício sem nenhuma motivação aparente. Esse comportamento tem sido associado a diversas causas, dentre elas diferenças psicológicas e na concentração de alguns neurotransmissores (GARLAND et al.,

2011). Contudo, não se sabe o mecanismo exato que explica essa atividade física sem aparente propósito alimentar. Talvez isso seja decorrente de um comportamento exploratório intrínseco a cada animal. De fato, existem estudos mostrando que algumas espécies e variantes genéticas são mais ativas do que outras (DEWSBURY, 1980).

Realizar a atividade física vinculada à uma necessidade que define a sobrevivência do animal e da espécie é um processo que envolve a avaliação constante dos custos e dos benefícios daquele comportamento. Nesse processo, a relação entre o tempo gasto e a quantidade de energia despendida no comportamento é fundamental e define o sucesso ou o fracasso da decisão. No que se refere ao forrageamento, a redução na disponibilidade de alimento pode provocar um aumento da atividade no período em que o animal é mais inativo, o que reduziria o tempo de outros comportamentos importantes, tais como, reprodução, investimento social, descanso, dentre outros (GARLAND et al., 2011).

Na tentativa de manter a atividade física no período preferido para a espécie, o aumento da velocidade pode ser uma alternativa, e, parece ser independente da espécie estudada e de outros fatores como sexo e capacidade aeróbica (PERRIGO, 1987; VAANHOLT et al., 2007). A redução da quantidade de alimento ingerido no presente estudo, aumentou tanto a distância percorrida quanto a velocidade escolhida pelos ratos nos períodos claro e escuro. Esses resultados estão de acordo com os trabalhos de Perrigo (1987) e Vaanholt et al. (2007) que também utilizaram o vínculo entre o exercício e o alimento, em camundongos.

Em relação à quantidade de energia despendida pelo animal no forrageamento, o aumento da velocidade provocado pelo vínculo, nos protocolos 1 e 2, e, entre os grupos CV e SV sugerem que, além de representar uma redução no tempo gasto com a atividade, o aumento da velocidade também pode diminuir o custo com a locomoção. Embora maiores velocidades estejam associadas a maiores gastos energéticos (TAYLOR et al., 1982), maiores velocidades tendem a aumentar a eficiência da locomoção (PYKE, 1981; GIRARD et al., 2001; CHAPPELL et al., 2007).

Em ambientes naturais, durante o forrageamento, a redução no custo da locomoção também está associada à combinação de traços morfológicos, anatômicos, fisiológicos e comportamentais que pode resultar na ampliação da área explorada por uma determinada espécie (REZENDE et al., 2009a). Aumentos na distância percorrida em

função do aumento da velocidade ao invés da duração têm sido observados em animais selecionados para altos níveis de atividade física, em comparação ao grupo controle (KOTEJA et al., 1999) e entre camundongos selvagens e de cativeiro (DOHM et al., 1994). Esse conjunto de alterações relacionadas ao tempo e à energia despendida na atividade influenciam diretamente o resultado no forrageamento e, por consequência, na capacidade do animal e da espécie em sobreviver.

Além de reduzir a variabilidade da distância percorrida, o vínculo também reduziu a variabilidade na velocidade média nos dois protocolos realizados (1 e 2). No entanto, a variabilidade na velocidade média observada no período da familiarização nas gaiolas foi menor quando comparada àquela na distância percorrida, neste mesmo período (no protocolo 1 e no grupo CV do protocolo 2). Já no grupo SV, a variabilidade da velocidade média foi mais alta em comparação à distância percorrida no período da familiarização nas gaiolas, entretanto, houve redução de aproximadamente 50% após este período. Menores coeficientes de variação para a velocidade foram relatados em camundongos, por Chappell et al. (2004). Esses resultados indicam que os animais escolhem velocidades mais confortáveis para se locomoverem voluntariamente, independente da disponibilidade de alimento, como observado no presente estudo. Podem, ainda, não ter relação com as condições intrínsecas dos animais, como a capacidade aeróbica, por exemplo (CHAPPELL et al., 2004).

5.2. Efeito do vínculo na composição corporal

Nossos resultados mostraram que o exercício vinculado à alimentação provocou alterações significativas na composição corporal dos animais. O exercício vinculado reduziu o índice de adiposidade dos ratos, entretanto, a massa muscular e a densidade óssea não sofreram modificações. Além disso, não houve diferença na massa úmida do fígado e do coração quando comparamos os ratos submetidos ao exercício vinculado com o grupo controle. Juntos, esses dados sugerem que o vínculo entre exercício e alimentação não prejudicou a saúde dos animais.

O índice de adiposidade no grupo CV (0,64%) foi, aproximadamente 80% menor em comparação aos grupos SV (2,96%) e SED (3,15%), no protocolo 2 (TAB. 6).

Resultados similares foram encontrados por Vaanholt et al. (2007) que observaram uma redução no tecido adiposo de aproximadamente 70% em camundongos que correram para obter alimento (vínculo mantido em 90% do máximo) em comparação ao grupo que teve acesso livre à roda e ao alimento.

O efeito do vínculo no tecido adiposo observado no presente trabalho e em Vaanholt et al. (2007) é maior se comparado aos efeitos do treinamento realizado na roda, sem o vínculo (TOKUYAMA et al., 1982; PITTS, 1984; CORTRIGHT et al., 1997) ou em esteira (CORDEIRO, 2012; LACERDA, 2012; BARCELLOS, 2011; PITTS, 1984). Alguns autores reportaram reduções no tecido adiposo, semelhantes às aquelas encontradas nesta investigação, quando os animais foram submetidos à regimes intensos de treinamento na esteira (PITTS, 1984; CREWS et al., 1969).

O efeito do vínculo no tecido adiposo também foi maior do que aqueles observados quando os animais não têm acesso ao exercício, mas são submetidos à protocolos de restrição calórica (HILL et al., 1985; HAMBLY; SPEAKMAN, 2005). A restrição calórica tem efeitos na massa corporal proporcionais à restrição. Restrições em torno de 20% (HAMBLY; SPEAKMAN, 2005) a 30% (GURSOY et al., 2001), como a observada no grupo SED, não são suficientes para provocar reduções na massa corporal, mas reduz a taxa de aumento da massa corporal em comparação ao grupo controle, o que pode explicar parcialmente as respostas similares na massa corporal entre os grupos SED e SV.

Restrições de 26% têm sido associadas ao aumento da vida de roedores e produz efeitos benéficos em algumas alterações genéticas e patológicas observadas com o envelhecimento (LEE et al., 2000; WEINDRUCH et al., 2001). As restrições em torno de 50%, provocaram reduções na massa corporal com perda de 26% do tecido adiposo e de 9% na massa magra (HILL et al., 1985). As diferenças dos protocolos 1 e 2, como por exemplo, a amplitude do aumento do custo para a obtenção de alimento e a duração do experimento não produziu diferenças no índice de adiposidade entre os animais, o que demonstra a estabilidade da resposta.

O vínculo não provocou alterações na massa úmida dos tecidos quando esta foi relativizada pela massa corporal total dos ratos. Esses resultados em combinação com os resultados no tecido adiposo sugerem que: 1) o percentual de redução da massa corporal estabelecido como critério para determinar a $TED_{máx}$ não provocou danos à

saúde do animal; 2) a redução nos depósitos de gordura no grupo CV, provavelmente, provocou as alterações observadas na massa corporal destes animais. A fase de estabilidade observada na massa dos animais CV pode ter sido decorrente da utilização das reservas de gordura armazenadas antes ou no começo do experimento, quando o custo da atividade ainda era pequeno. A redução ponderal ao final do experimento, por sua vez, indica que a quantidade de energia obtida com o exercício não foi suficiente para manter as necessidades mínimas depois que as reservas de gordura foram utilizadas.

Menores massas, decorrentes de menores depósitos de gordura, sem alteração de outros tecidos pode ser uma vantagem para a sobrevivência do animal na natureza, principalmente para aquelas espécies que dependem da realização da atividade física para fugir de predadores ou obter alimento. Investigações sobre o efeito da domesticação na composição corporal de ratos (CASTLE, 1947) e de camundongos (DOHM et al., 1994) têm relatado que animais selvagens são menores e apresentam melhor desempenho na esteira e na roda em comparação aos animais domesticados. Esses e outros efeitos relacionados à domesticação, no comportamento, por exemplo, podem produzir animais muito diferentes daqueles encontrados na natureza. Nessa direção, a associação entre a disponibilidade de alimento reduzida e o aumento progressivo do custo para a sua obtenção provocada no presente estudo, pode ser um modelo experimental mais adequado para o estudo de inúmeras doenças, tais como aquelas associadas ao sedentarismo (ROWLAND et al., 2008).

O consumo calórico e a massa corporal não foram diferentes quando comparamos o grupo SV com o grupo SED (FIG. 21). Esses resultados sugerem que a atividade física realizada pelos ratos do grupo SV não foi suficiente para provocar alterações na massa corporal. Resultados semelhantes foram encontrados por Afonso e Eikelboom (2003). Esses autores encontraram distâncias que variaram entre 841 a 3303 km em ratos pouco corredores, com livre acesso à roda, sem vínculo, portanto, similares às distâncias observadas no grupo SV (em média 1068 ± 95 m por dia), na investigação aqui apresentada. O aumento contínuo da massa corporal têm sido observado em ratos que foram submetidos ao treinamento na esteira (CORDEIRO, 2012; LACERDA, 2012; BARCELLOS, 2011), à roda sem vínculo e àqueles sem acesso ao exercício

(CORTRIGHT et al., 1997), como observado no presente estudo, nos grupos SV e SED.

De acordo com Pahl (1969), o aumento na massa corporal de ratos mantidos em cativeiro ocorre em duas fases. A primeira, quando os ratos ainda não atingiram a maturidade, onde todas as partes do animal crescem, resultando em altas taxas de crescimento. Durante a segunda fase, após o período de maturação, há um aumento na massa corporal que não está relacionada com mudanças no tamanho de outras partes do corpo como a cauda e os ossos longos. Nessa segunda fase, o aumento da massa corporal pode ser decorrente do aumento do tecido adiposo. Pitts (1984) encontrou uma estabilização na massa corporal em torno de 35 dias.

Embora haja evidências de que o esqueleto do rato não alcança a maturidade, como ocorre em humanos (ACHESON et al., 1959), Pitts (1984) não observou diferenças no comprimento do animal entre 160 e 260 dias de idade. Os dados relacionados ao comprimento final dos ratos, no presente estudo, sugerem que não houve efeito do vínculo no crescimento dos animais. Cortright et al. (1997) encontraram resultados semelhantes quando mediram o efeito de 9 semanas de acesso livre à roda, sem vínculo com o fornecimento de alimento. Em conjunto, esses dados sugerem que o aumento de massa dos animais em função da idade seja decorrente do aumento dos depósitos de gordura e não do crescimento corporal como um todo.

No presente estudo, a massa úmida do coração, do gastrocnêmio e do sóleo direito foram maiores nos grupos CV e SV em comparação ao SED, quando relativizada pela massa corporal. Os resultados aqui encontrados contradizem Vaanholt et al. (2007), que encontraram reduções na massa específica do coração, do fígado e dos rins e aumento da massa do intestino dos camundongos que correram de modo vinculado ao fornecimento de alimento. Esses autores mantiveram os camundongos por 14 dias a 90% do máximo no vínculo. As discrepâncias metodológicas entre os dois trabalhos podem ter provocado as diferenças nos resultados.

Os primeiros dias de acesso à roda provocaram uma redução na quantidade de alimento ingerido nos grupos SV e CV. Essa supressão na ingestão calórica já está bem descrita na literatura (COLLIER, 1970; GOODRICK et al., 1983; AFONSO; EIKELBOOM, 2003; LATTANZIO; EIKELBOOM, 2003) e parece ser independente da novidade (presença da roda) (O'CONNOR; EIKELBOOM, 2000), do sexo dos animais

(TOKUYAMA et al., 1982), da idade (LOOY; EIKELBOOM, 1989) e da disponibilidade de alimento (ROUTTENBERG; KUZNESOF, 1967; BOAKES; DWYER, 1997).

De acordo com o conteúdo calórico da ração fornecida e o período de estabilidade da massa corporal entre os dias 3 e 24 (protocolo 2), foi possível estimar o gasto energético diário dos animais do grupo CV, que foi de 73,6 kcal/dia. Tem sido reportado que ratos com livre acesso à roda, sem vínculo, gastam, em média, 13% da energia presente no alimento ingerido por dia para correr na roda (AFONSO; EIKELBOOM, 2003). Neste caso, os animais do presente estudo estariam consumindo 9,56 kcal para percorrer em média 4673m (distância média percorrida pelos animais no período descrito acima), ou 0,002 kcal/m. Este valor é menor do que aquele encontrado por Afonso e Eikelboom (2003) que foi de 2,26 kcal/m, mas está de acordo com valores encontrados para ratos Wistar durante um exercício constante em esteira, a 18m/min, durante aproximadamente 50 minutos (SOARES et al., 2003). Esses resultados sugerem que os animais do grupo CV, do presente estudo, podem ter melhorado a eficiência mecânica como uma adaptação decorrente da associação entre o aumento da atividade e a redução da ingestão calórica.

Todos os resultados obtidos sugerem que os efeitos provocados pelo método vinculado na homeostase energética são muito diferentes daqueles envolvidos nos protocolos de exercício forçado, tradicionalmente utilizados.

5.3. Efeito do vínculo na temperatura colônica

A temperatura ambiente pode influenciar diversas respostas fisiológicas dos animais. Reduções na temperatura ambiente podem provocar, de maneira proporcional, diversas alterações na capacidade aeróbica (HAYES; CHAPPELL, 1986; WANG, 1981; REZENDE et al., 2009b), na atividade do tecido adiposo marron (HIMMS; HAGEN 1989; FOSTER; FRYDMAN, 1978; THORNHILL; HALVORSON, 1990), na massa e na atividade da adrenal (KUROSHIMA, 1982), na temperatura interna (ANDERSEN et al., 1960), na taxa metabólica basal (BANET, 1988; POHL, 1965; CHAFFEE; ROBERTS, 1971), dentre outras. As faixas de termoneutralidade para roedores variam

em função das condições do local onde o animal é mantido, como a presença de maravalha na caixa, por exemplo. Nesse sentido, a zona considerada como termoneutra para ratos Wistar, está entre 29,5 e 30,5°C (ROMANOVSKY et al., 2002), mas pode ser mais baixa se as condições experimentais forem outras.

A temperatura do ambiente mantida no presente trabalho foi um pouco abaixo da faixa termoneutra ($24,8 \pm 1,7$ e $24,2 \pm 1,4$ °C nos protocolos 1 e 2, respectivamente). Talvez, em função das condições experimentais, é possível que, de forma isolada ou em combinação, o exercício, a disponibilidade de alimento e a temperatura ambiente tenham contribuído para a redução da temperatura colônica observada durante o vínculo nos protocolos 1 e 2. Com base nos resultados que temos não é possível afirmar se houve ou não a influência da temperatura do ambiente nas respostas de temperatura colônica. No entanto, é importante salientar que, todos os grupos foram mantidos nas mesmas condições ambientais, e, portanto, as respostas da temperatura colônica observada no grupo CV foram, provavelmente, decorrentes do vínculo entre a atividade física e o fornecimento de alimento.

Nos grupos CV e SV houve redução na temperatura colônica no começo do experimento, quando os animais começaram a realizar o exercício. Após aproximadamente 21 dias, a temperatura colônica dos ratos do grupo SV estabilizou. Já no grupo CV a temperatura colônica continuou reduzindo progressivamente, apresentando um aumento no dia 36 e depois outra redução. A redução observada no começo do experimento nos dois grupos pode ter sido provocada pelo exercício em si, independente do vínculo, provavelmente como resposta ao treinamento físico, já que não foram observadas modificações na temperatura colônica do grupo SED neste período. Não foram observadas diferenças na capacidade aeróbica dos animais dos grupos SV, CV e SED, inferidas pela velocidade máxima no teste progressivo na esteira. Essa pode ser uma limitação metodológica desta pesquisa, uma vez que não medimos a capacidade aeróbica (VO_{2max}) na roda, e, por isso não podemos concluir se houve modificações na capacidade aeróbica dos animais.

No grupo CV a redução na temperatura colônica acompanhou o aumento progressivo da razão entre a distância e o alimento e pode ter sido causada pela redução na disponibilidade de alimento associada ao aumento da distância, condição na qual a redução da temperatura interna seria uma estratégia para manter a temperatura corporal

às custas de quantidades de energia escassas, como acontece em determinados períodos na natureza, no inverno, por exemplo (BURNS et al., 2006). A redução na temperatura interna resultante da redução do metabolismo basal em períodos de pouca disponibilidade de alimento tem sido observada em primatas não humanos (LANE et al., 1996) e, em diversas espécies de roedores submetidos à diversos protocolos de restrição alimentar (DUFFY et al., 1989; SEVERINSEN; MUNCH, 1999; SPEAKMAN; MITCHELL, 2011). Outro fator associado à disponibilidade de alimento e que também pode ter contribuído para a redução da temperatura colônica dos animais do grupo CV foi a redução da massa corporal, o que provavelmente modificou a relação entre a área de superfície corporal/massa corporal, facilitando assim a perda de calor (HERRINGTON, 1940). Tanto a redução na massa corporal como a redução da temperatura interna são estratégias para reduzir o metabolismo basal e aumentar a chance de sobrevivência do animal em períodos com pouca disponibilidade de alimento e em ambientes frios.

O aumento transitório na temperatura colônica observada no dia 36, no grupo CV, pode ter sido uma tentativa de aumentar a produção de calor, pelo tremor ou pelo aumento da atividade do tecido adiposo marrom, quando a redução na temperatura interna dos animais pode ter alcançado um valor que, se mantido, poderia ameaçar a vida do animal. Como houve continuação do aumento do custo energético para a obtenção do alimento, a temperatura colônica reduziu novamente.

Portanto, de maneira resumida, as principais hipóteses para explicar a redução observada na temperatura colônica provocada pelo vínculo são:

1. a estabilidade seguida da redução na massa corporal pode ter representado uma redução na proporção entre a área de superfície corporal/massa corporal, facilitando assim a perda de calor. Neste caso, a temperatura ambiente para estes animais pode ter representado um ambiente mais frio do que para os animais dos outros grupos (SV e SED), provocando algumas adaptações relacionadas à aclimação ao frio, dentre elas a redução na temperatura interna basal;
2. o aumento da distância percorrida a cada 3 dias teria funcionado como um programa de condicionamento físico progressivo, o que teria aumentado a

capacidade aeróbica, que contribuiria para a redução da temperatura interna;

3. os fatores acima combinados, teriam produzido o tipo de aclimação ao frio observada em condições de restrição ou carência alimentar, nas quais os animais preferem reduzir a temperatura interna (dispendendo menos energia na termorregulação) do que manter a temperatura original às custas de quantidades de energia indisponíveis.

A temperatura colônica vem sendo amplamente utilizada como um indicador da temperatura interna em experimentos com roedores (WILSON et al., 1978; SHELLOCK; RUBIN, 1984; RODRIGUES et al., 2004). No entanto esse é um método que pode apresentar algumas desvantagens, dentre elas a influência da temperatura ambiente quando o sensor é inserido a uma distância de 3 a 4 cm além do esfíncter anal e o efeito da contenção do animal para a inserção do sensor. No protocolo 1 a medida da temperatura colônica foi realizada inserindo o sensor a 4 cm além do esfíncter anal e os animais não foram familiarizados à contenção antes das medidas serem realizadas.

Para verificar se as respostas obtidas no protocolo 1 foram decorrentes das condições experimentais e não de problemas metodológicos, o protocolo 3 foi realizado. Os resultados obtidos nesse protocolo indicam que quando o sensor foi inserido a 6 cm além do esfíncter anal, há uma forte correlação positiva entre a temperatura colônica e a intraperitoneal. Com base nessa correlação e na semelhança da resposta entre os protocolos 1 e 2, podemos concluir que não houve influência da temperatura ambiente na medida da temperatura colônica e que a contenção do animal não diminuiu a relação entre as duas temperaturas.

5.4. Método forçado vs método voluntário sem vínculo vs método voluntário vinculado ao fornecimento de alimento

A capacidade aeróbica inferida pela velocidade máxima obtida no teste progressivo não foi diferente entre os grupos CV, SV e SED e foi menor após o período do experimento, inclusive para o grupo CV, que percorreu longas distâncias, diariamente.

Esses dados sugerem que não há relação entre o desempenho alcançado pelos animais na roda, com vínculo ou sem vínculo e aquele obtido na esteira, com intensidade progressiva (LAMBERT et al., 1996). Diferenças no desempenho e no custo energético entre o método forçado na esteira e o voluntário, na roda, já foram descritas por outros pesquisadores (GIRARD et al., 2001; CHAPPELL et al., 2004). Em relação ao desempenho, as velocidades médias alcançadas pelos animais que têm acesso livre à roda, sem vínculo, são menores do que a velocidade máxima obtida na esteira (CHAPPELL 2004), como foi observado no presente estudo, no grupo SV. O vínculo, nos dois protocolos (1 e 2) resultou em velocidade média maior do que aquela obtida no teste progressivo na esteira. Em função das diferenças entre os dois aparatos (esteira e roda), não podemos comparar os resultados obtidos.

Animais na natureza podem escolher se moverem em diversas velocidades e durações (KENAGY; HOYT, 1989; BLUMSTEIN, 1992; WEINSTEIN, 1995; CHRISTIAN et al., 1997; IRSCHICK; JAYNE, 1999), além disso, ao contrário do que acontece nos protocolos de exercício forçado, diversas espécies, inclusive o ser humano, exibem locomoção intermitente (KRAMER; McLAUGHLIN, 2001), como por exemplo, os esquilos (*Tamias striatus*). Eles gastam, de maneira intermitente, em torno de 41% do tempo do forrageamento com pausas curtas que podem ajudar na identificação de presas, evitar a predação e, ainda, melhorar o desempenho (McADAM; KRAMER, 1998).

O exercício forçado, realizado na esteira, com intensidade progressiva ou constante é bastante diferente daquele realizado na natureza e na roda, voluntariamente. No exercício forçado o animal não escolhe a velocidade, o horário do dia, não pode parar para comer ou beber água e é motivado pelo medo. As medidas de desempenho realizadas nos protocolos forçados como, por exemplo, velocidade máxima, tempo total de exercício e capacidade aeróbica não refletem o comportamento do animal em condições naturais, onde o desafio para obter alimento, escapar de predadores, reproduzir, dentre outros, impõem características completamente diferentes ao modo como a atividade física é realizada (GARLAND; LOSOS, 1994).

O exercício realizado na roda, sem o vínculo, embora seja voluntário, pode trazer algumas complicações nas interpretações sobre o comportamento do animal. As decisões envolvidas no forrageamento em ambientes naturais são difíceis de serem

reproduzidas em pesquisas realizadas em laboratório. Contudo, métodos que vinculam a atividade física a comportamentos importantes para a sobrevivência do animal, podem contribuir para o esclarecimento de questões relacionadas aos mecanismos biológicos envolvidos nesses comportamentos, o que não é possível com a utilização de protocolos que isolam esses fatores (ROWLAND et al., 2008).

6. LIMITAÇÕES

Uma limitação temporária do método é a dificuldade de comparação entre a atividade realizada na roda com a atividade na esteira rolante, sendo, esta última a predominante na maioria dos estudos sobre exercício. As diferenças biomecânicas entre os dois exercícios devem ser objeto de estudos futuros assim como é necessária a medida do consumo de oxigênio envolvido na atividade voluntária e vinculada ao alimento. Outra limitação seria a aplicação, em laboratório, deste método em humanos, o que seria possível nesta espécie, somente em condições de sobrevivência ou durante a prática de atividades militares ou esportivas.

CONCLUSÕES

O presente estudo demonstrou a eficácia de um método de laboratório mais próximo às condições naturais de promoção da atividade física voluntária. O método permitiu a observação de comportamentos fisiológicos coerentes com as hipóteses originadas de observações em condições naturais, ou seja, de que os animais somente se exercitam significativamente se houver uma necessidade biológica. Além disso, o método foi capaz de induzir mecanismos de ajuste da massa corporal, dos parâmetros do exercício e da termorregulação relacionados com o exercício vinculado ao fornecimento de alimento.

REFERÊNCIAS

- ABBISS, C. R.; LAURSEN, P. B. Models to explain fatigue during prolonged endurance cycling. *Sports Med.* n. 35, p. 865-898, 2005.
- ACHESON, R. M.; MACINTYRE, M. N.; OLDHAM, E. Techniques in longitudinal studies of the skeletal development of the rat. *Br. J. Nutr.* n. 13, p. 283-292, 1959.
- AFONSO, V. M.; EIKELBOOM, R. Relationship between wheel running, feeding, drinking, and body weight in male rats. *Physiol. Behav.* n. 80, p. 19-26, 2003.
- ALTEMUS, M.; GLOWA, JR.; MURPHY, D. L. Attenuation of food-restriction-induced running by chronic fluoxetine treatment. *Psychopharmacology bulletin.* n. 29, p. 397-400, 1993.
- ANDERSEN, K. L.; NELMS, J. D.; WILSON, O.; FOX, R. H.; BOLSTAD, A. Metabolic and thermal response to a moderate cold exposure in nomadic Lapps. *J. Appl. Physiol.* n. 15, p. 649-653, 1960.
- BANET, M. Long-term cold adaptation in the rat. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology* n. 89, p. 137-140, 1988.
- BARCELLOS, L. A. M. Sistema serotoninérgico está envolvido na modulação da ingestão alimentar e massa corporal de maneira dependente da dieta e treinamento físico. 2011. 102f. Dissertação (mestrado em Ciências do Esporte) – Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.
- BELKE, T. W.; PIERCE, W. D.; JENSEN, K. Effect of short-term prefeeding and body weight on wheel running and responding reinforced by the opportunity to run in a wheel. *Behav. Processes* n. 67, p. 1-10, 2004.
- BLAIR, S. N.; KOHL, H. W.; GORDON, N. F.; PAFFENBARGER, JR. R. S. How much physical activity is good for health? *Annu. Rev. Public Health.* n. 13, p. 99-126, 1992.
- BLUMSTEIN, D. T. Multivariate analysis of golden marmot maximum running speed: a new method to study MRS in the field. *Ecol.* n. 73, p. 1757-1767, 1992.
- BOAKES, R.; DWYER, R. B. D. Weight loss in rats produced by running: Effects of prior experience and individual housing. *Q. J. Exp. Psychol. Sect. B.* n. 50, p. 129-148, 1997.
- BORBA, D. A. Efeito da presença, tipo e da cor da roupa sobre a velocidade em 10 km de corrida sob o sol. 2009. 105f. Dissertação (mestrado em Ciências do Esporte) - Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional, Universidade Federal de Minas Gerais, 2009. (Dissertação de Mestrado em Ciências do Esporte).

BRAMBLE, D. M.; LIEBERMAN, D. E. Endurance running and the evolution of Homo. *Nature*. n. 432, p. 345-352, 2004.

BURDEN, V. R.; WHITE, B. D.; DEAN, R. G.; MARTIN, R. J. Activity of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis is elevated in rats with activity-based anorexia. *J. Nut.* n. 123, p. 1217-1225, 1993

BURNS, J. M.; WILLIAMS, T. M.; SECOR, S. M.; OWEN-SMITH, N.; BARGMANN, N. A.; CASTELLINI, M. A. New Insights into the Physiology of Natural Foraging. *Physiol. Biochem. Zool.* n. 79, p. 242-249, 2006.

CASTLE, W. E. The domestication of the rat. *Proc. Natl. Acad. Sci.* n. 33, p. 109-117, 1947.

CHAFFEE, R. R. J.; ROBERTS, J. C. Temperature acclimation in birds and mammals. *Ann. Rev. Physiol.* n. 33, p. 155-202, 1971.

CHAKRAVARTHY, M. V.; BOOTH, F. W. Eating, exercise, and “thrifty” genotypes: connecting the dots toward an evolutionary understanding of modern chronic diseases. *J. Appl. Physiol.* n. 96, p. 3-10, 2004.

CHAPPELL, M. A.; GARLAND, JR. T.; REZENDE, E. L.; GOMES, F. R. Voluntary running in deer mice: speed, distance, energy costs and temperature effects. *J. Exp. Biol.* n. 207, p. 3839-3854, 2004.

CHAPPELL, M. A.; GARLAND, JR. T.; ROBERTSON, G. F.; SALTZMAN, W. Relationships among running performance, aerobic physiology and organ mass in male Mongolian gerbils. *J. Exp. Biol.* n. 210, p. 4179-4197, 2007.

CHRISTIAN, K. A.; BAUDINETTE, R. V.; PAMULA, Y. Energetic costs of activity by lizards in the field. *Funct. Ecol.* n. 11, p. 392-397, 1997.

COLLIER, G. H. Work: a weak reinforcer. *Trans. N. Y. Acad. Sci.* n. 32, p. 557-576, 1970.

CORDEIRO, L. M. S. Adaptações metabólicas induzidas pelo treinamento físico estimulam a lipólise no tecido adiposo pela ação de citocinas e melhoram a sensibilidade insulínica pela via da TRB3 no músculo. 2012. 116f. Tese (doutorado em Ciências Biológicas) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2012.

CORTRIGHT, R. N.; CHANDLER, M. P.; LEMON, P. W.; DICARLO, S. E. Daily exercise reduces fat, protein and body mass in male but not female rats. *Physiol. Behav.* n. 62, p. 105-111, 1997.

CREWS, E. L.; FUGE, K. W.; OSCAI, L. B.; HOLLOSZY, J. O.; SHANK, R. E. Weight, food intake, and body composition: effects of exercise e of protein deficiency. *Am. J. Physiol. Cont.* n. 216, p. 359-363, 1969.

DEWSBURY, D. A. Wheel-running behavior in 12 species of muroid rodents. *Behav. Proc.* n. 5, p. 271-280, 1980.

DOHM, M. R.; RICHARDSON, C. S.; GARLAND, JR. T. Exercise physiology of wild and random-bred laboratory house mice and their reciprocal hybrids. *Am. J. Physiol.-Regul. Integr. Comp. Physiol.* n. 267, p. R1098-R1108, 1994.

DUDLEY, R. Limits to human locomotor performance: phylogenetic origins and comparative perspectives. *J. Exp. Biol.* n. 204, p. 3235-3240, 2001.

DUFFY, P. H.; FEUERS, R. J.; LEAKEY, J. A.; NAKAMURA, K. D.; TURTURRO, A.; HART, R. W. Effect of chronic caloric restriction on physiological variables related to energy metabolism in the male Fischer 344 rat. *Mech. Ageing Dev.* n. 48, p. 117-133, 1989.

EATON, S. B.; EATON, S. B. An evolutionary perspective on human physical activity: implications for health. *Comp. Biochem. Physiol.-Part Mol. Integr. Physiol.* n. 136, p. 153-159, 2003.

EDWARDS, R. H. Human muscle function and fatigue. In: PORTER, R.; WHELAN, J. Human. *Muscle Fatigue: Physiological Mechanisms*. London: Pitman, p. 1-18, 1981.

EISENMANN, J. C.; WICKEL, E. E.; KELLY, S. A.; MIDDLETON, K. M.; GARLAND, JR. T. Day-to-day variability in voluntary wheel running among genetically differentiated lines of mice that vary in activity level. *Eur. J. Appl. Physiol.* n. 106, p. 613-619, 2009.

FERGUSON, S. A.; PAULE, M. G. Lack of effect of prefeeding on food-reinforced temporal response differentiation and progressive ratio responding. *Behav. Proc.* n. 34, p. 153-160, 1995.

FERGUSON, S. A.; PAULE, M. G. Progressive ratio performance varies with body weight in rats. *Behav. Proc.* n. 40, p. 177-182, 1997.

FERREIRA JUNIOR, J.; MARTINI, A.; BORBA, D.; GOMES, L.; PINTO, J.; OLIVEIRA, B.; COELHO, D.; PRADO, L.; RODRIGUES, L. Lower head temperature does not affect children's self-paced running velocity. *Pediatr. Exerc. Sci.* n. 25, p. 114-123, 2013.

FIGLEWICZ, D. P.; EVANS, S. B.; MURPHY, J.; HOEN, M.; BASKIN, D. G. Expression of receptors for insulin and leptin in the ventral tegmental area/substantia nigra (VTA/SN) of the rat. *Brain Res.* n. 964, p. 107-115, 2003.

FLETCHER, W. M. The osmotic properties of muscle, and their modifications in fatigue and rigor. *J. Physiol.* n. 30, p. 414-438, 1904.

FOSTER, D. O.; FRYDMAN, M. L. Nonshivering thermogenesis in the rat. II. Measurements of blood flow with microspheres point to brown adipose tissue as the dominant site of the calorogenesis induced by noradrenaline. *Can. J. Physiol. Pharm.* n. 56, p. 110-122, 1978.

GANDEVIA, S. C. Spinal and supraspinal factors in human muscle fatigue. *Physiol. Rev.* n. 81, p. 1725-1789, 2001.

GARLAND, JR. T.; LOSOS, J. B. Ecological morphology of locomotor performance in squamate reptiles. In: WAINAINWRIGHT, P. C.; REILLY, S. M. (orgs.). *Ecological Morphology: Integrative Organismal Biology*. University of Chicago Press, Chicago, p. 240-302, 1994.

GARLAND, JR. T.; SCHUTZ, H.; CHAPPELL, M. A.; KEENEY, B. K.; MEEK, T. H.; COPEL, L. E.; ACOSTA, W.; DRENOWATZ, C.; MACIEL, R. C.; VAN DIJK, G. The biological control of voluntary exercise, spontaneous physical activity and daily energy expenditure in relation to obesity: human and rodent perspectives. *J. Exp. Biol.* n. 214, p. 206-229, 2011.

GELEGEN, C.; COLLIER, D. A.; CAMPBELL, I. C.; OPPELAAR, H.; KAS, M. J. Behavioral, physiological, and molecular differences in response to dietary restriction in three inbred mouse strains. *Am. J. Physiol. Endoc. Metab.* n. 291, p. E574–E581, 2006.

GIRARD, I.; McALEER, M. W.; RHODES, J. S.; GARLAND, JR. T. Selection for high voluntary wheel-running increases speed and intermittency in house mice (*Mus domesticus*). *J. Exp. Biol.* n. 204, p. 4311-4320, 2001.

GONZÁLEZ-ALONSO, J.; TELLER, C.; ANDERSEN, S. L.; JENSEN, F. B.; HYLDIG, T.; NIELSEN, B. Influence of body temperature on the development of fatigue during prolonged exercise in the heat. *J. Appl. Physiol.* n. 86, p. 1032-1039, 1999.

GOODRICK, C. L.; INGRAM, D. K.; REYNOLDS, M. A.; FREEMAN, JR.; CIDER, N. L. Differential effects of intermittent feeding and voluntary exercise on body weight and lifespan in adult rats. *J. Gerontol.* n. 38, p. 36-45, 1983.

GURSOY, E.; CARDOUNEL, A.; HU, Y.; KALIMI, M. Biological effects of long-term caloric restriction: adaptation with simultaneous administration of caloric stress plus repeated immobilization stress in rats. *Exp. Biol. Med.* n. 226, p. 97-102, 2001.

HAMBLY, C.; SPEAKMAN, JR. Contribution of different mechanisms to compensation for energy restriction in the mouse. *Obes. Res.* n. 13, p. 1548-1557, 2005.

HARRIS, R. B. Role of set-point theory in regulation of body weight. *Faseb J.* n. 4, p. 3310-3318, 1990.

HAYES, J. P.; CHAPPELL, M. A. Effects of cold acclimation on maximum oxygen consumption during cold exposure and treadmill exercise in deer mice, *Peromyscus maniculatus*. *Physiol. Zool.* n. 59, p. 473-481, 1986.

HERRINGTON, L. P. The heat regulation of small laboratory animals at various environmental temperatures. *Am. J. Physiol. Cont.* n. 129, p. 123-139, 1940.

HILL, A. V.; LONG, C. N. H.; LUPTON, H. The effect of fatigue on the relation between work and speed, in contraction of human arm muscles. *J. Physiol.* n. 58, p. 334-337, 1924.

HILL, J. O.; LATIFF, A.; DIGIROLAMO, M. Effects of variable caloric restriction on utilization of ingested energy in rats. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* n. 248, p. R549-R559, 1985.

HILL, J.O. Understanding and addressing the epidemic of obesity: an energy balance perspective. *Endocr. Rev.* n. 27, p. 750-761, 2006.

HIMMS-HAGEN, J. Brown adipose tissue thermogenesis and obesity. *Progr. Lipid Res.* n. 28, p. 67-115, 1989.

HOUSTON, A. I.; McNAMARA, J. M. The value of food: effects of open and closed economies. *Anim. Behav.* n. 37, p. 546-562, 1989.

IRSCHICK, D. J.; JAYNE, B. C. A field study of the effects of incline on the escape locomotion of a bipedal lizard, *Callisaurus draconoides*. *Physiol. Biochem. Zool.* n. 72, p. 44-56, 1999.

KANAREK, R. B.; D'ANCI, K. E.; JURDAK, N.; MATHES, W. F. Running and addiction: precipitated withdrawal in a rat model of activity-based anorexia. *Behav. Neurosci.* n. 123, p. 905-912, 2009.

KAUFMAN, L. W.; COLLIER, G. Cost and meal patterns in wild-caught rats. *Physiol. Behav.* n. 30, p. 445-449, 1983.

KENAGY, G. J.; HOYT, D. F. Speed and time-energy budget for locomotion in golden-mantled ground squirrels. *Ecol.* n. 70, p. 1834-1839, 1989.

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

KOTEJA, P.; SWALLOW, J. G.; CARTER, P. A.; GARLAND, JR. T. Energy cost of wheel running in house mice: implications for coadaptation of locomotion and energy budgets. *Physiol. Biochem. Zool.* n. 72, p. 238-249, 1999.

KRAMER, D. L.; McLAUGHLIN, R. L. The behavioral ecology of intermittent locomotion. *Am. Zool.* n. 41, p. 137-153, 2001.

KREBS, J. R.; DAVIES, N. B.; RAMALHO, M.; MACHADO, C. P. *Introdução à ecologia comportamental*. Atheneu Editora, 1996. 420p.

KRÜGEL, U.; SCHRAFT, T.; KITTNER, H.; KIESS, W.; ILLES, P. Basal and feeding-evoked dopamine release in the rat nucleus accumbens is depressed by leptin. *Eur. J. Pharm.* n. 482, p. 185-187, 2003.

KUROSHIMA, A.; YAHATA, T.; DOI, K.; OHNO, T. Thermal and metabolic responses of temperature-acclimated rats during cold and heat exposures. *Jap. J. Physiol.* n. 32, p. 561-571, 1982.

LACERDA, D. R. Efeito do treinamento físico no esqueleto de ratas com obesidade associada à ovariectomia. 2012. 162f. Dissertação (mestrado em Ciências do Esporte) -

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

LAMBERT, M. I.; NOAKES, T. D. Spontaneous running increases VO_{2max} and running performance in rats. *J. Appl. Physiol.* n. 68, p. 400-403, 1990.

LAMBERT, M. I.; VAN ZYL, C.; JAUNKY, R.; LAMBERT, E. V.; NOAKES, T. D. Tests of running performance do not predict subsequent spontaneous running in rats. *Physiol. Behav.* n. 60, p. 171-176, 1996.

LAMBERT, E. V.; GIBSON, A. S. C.; NOAKES, T. D. Complex systems model of fatigue: integrative homeostatic control of peripheral physiological systems during exercise in humans. *Br. J. Sports Med.* n. 39, p. 52-62, 2005.

LANE, M. A.; BAER, D. J.; RUMPLER, W. V.; WEINDRUCH, R.; INGRAM, D. K.; TILMONT, E. M.; CUTLER, R. G.; ROTH, G. S. Calorie restriction lowers body temperature in rhesus monkeys, consistent with a postulated anti-aging mechanism in rodents. *Proc. Natl. Acad. Sci.* n. 93, p. 4159-4164, 1996.

LATTANZIO, S. B.; EIKELBOOM, R. Wheel access duration in rats: I. Effects on feeding and running. *Behav. Neurosci.* n. 117, p. 496-504, 2003.

LEE, C. K.; WEINDRUCH, R. PROLLA, T. A. Gene-expression profile of the ageing brain in mice. *Nat. Genet.* n. 25, p. 294-297, 2000.

LEMON, W. C.; BARTH, R. H. The effects of feeding rate on reproductive success in the zebra finch, *Taeniopygia guttata*. *Anim. Behav.* n. 44, p. 851-857, 1992.

LIMA, N. R. V.; COIMBRA, C. C.; MARUBAYASHI, U. Effect of intracerebroventricular injection of atropine on metabolic responses during exercise in untrained rats. *Physiol. Behav.* 64: 69-74, 1998.

LIMA, N. R. V.; PEREIRA, W.; REIS, A. M.; COIMBRA, C. C.; MARUBAYASHI, U. Prolactin release during exercise in normal and adrenalectomized untrained rats submitted to central cholinergic blockade with atropine. *Horm. Behav.* n. 40, p. 526-532, 2001.

LOOY, H.; EIKELBOOM, R. Wheel running, food intake, and body weight in male rats. *Physiol. Behav.* n. 45, p. 403-405, 1989.

MARCORA, S. M. Do we really need a central governor to explain brain regulation of exercise performance? *Eur. J. Appl. Physiol.* n. 104, p. 929-931, 2008.

MARTINI, A. R. Raspar a cabeça não altera a velocidade na corrida de 10 km sob o sol. 2009. 116f. Dissertação (mestrado em Ciências do Esporte). Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional, Universidade Federal de Minas Gerais, 2009.

McADAM, A. G.; KRAMER, D. L. Vigilance as a benefit of intermittent locomotion in small mammals. *Anim. Behav.* n. 55, p. 109-117, 1998.

MONDON, C. E.; DOLKAS, C. B.; SIMS, C.; REAVEN, G. M. Spontaneous running activity in male rats: effect of age. *J. Appl. Physiol.* n. 58, p. 1553-1557, 1985.

MORTON, G. J.; CUMMINGS, D. E.; BASKIN, D. G.; BARSH, G. S.; SCHWARTZ, M. W. Central nervous system control of food intake and body weight. *Nat.* n. 443, p. 289-295, 2006.

MOSSO, A. *La Fatica*. Fratelli Treves, Milano, 1892. Disponível em: <http://bore.usp.br/xmlui/handle/123456789/1244>. Acesso em: 21 fev./2012.

NOAKES, T. D.; GIBSON, A. S. C.; LAMBERT, E. V. From catastrophe to complexity: a novel model of integrative central neural regulation of effort and fatigue during exercise in humans: summary and conclusions. *Br. J. Sports Med.* n. 39, p. 120-124, 2005.

NOAKES, T. D.; GIBSON, A. S. C. Logical limitations to the “catastrophe” models of fatigue during exercise in humans. *Br. J. Sports Med.* n. 38, p. 648-649, 2004.

NOAKES, T. D. Physiological models to understand exercise fatigue and the adaptations that predict or enhance athletic performance. *Scand. J. Med. Sci. Sports.* n. 10, p. 123-145, 2000.

NOAKES, T. D. Time to move beyond a brainless exercise physiology: the evidence for complex regulation of human exercise performance. *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* n. 36, p. 23-35, 2011.

NOVAK, C. M.; BURGHARDT, P. R.; LEVINE, J. A. The use of a running wheel to measure activity in rodents: relationship to energy balance, general activity, and reward. *Neurosc. Biobeh. Rev.* n. 36, p. 1001-1014, 2012.

NYBO, L.; NIELSEN, B. Hyperthermia and central fatigue during prolonged exercise in humans. *J. Appl. Physiol.* n. 91, p. 1055-1060, 2001.

O’CONNOR, R.; EIKELBOOM, R. The effects of changes in housing on feeding and wheel running. *Physiol. Behav.* n. 68, p. 361-371, 2000.

OLIVEIRA, K. P. M. Efeito do protetor solar sobre a fadiga durante a corrida com exposição ao sol. 2009. 124f. Dissertação (mestrado em Ciências do Esporte) - Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2009.

OU DOT, F.; LARUE-ACHAGIOTIS, C.; ANTON, G.; VERGER, P. Modifications in dietary self-selection specifically attributable to voluntary wheel running and exercise training in the rat. *Physiol. Behav.* n. 59, p. 1123-1128, 1996.

PASSOS, R. L. F. Idosos apresentam menor capacidade sudorípara do que jovens durante exercício de intensidade autorregulada sob o sol. 2011. 71f. Dissertação (mestrado em Ciências do Esporte) - Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional, Universidade Federal de Minas Gerais, 2011.

- PAHL, P. J. Growth curves for body weight of the laboratory rat. *Aust. J. Biol. Sci.* n. 22, p. 1077-1080, 1969.
- PERRIGO, G.; BRONSON, F. H. Foraging effort, food intake, fat deposition and puberty in female mice. *Biol. Reprod.* n. 29, p. 455-463, 1983.
- PERRIGO, G. Breeding and feeding strategies in deer mice and house mice when females are challenged to work for their food. *Anim. Behav.* n. 35, p. 1298-1316, 1987.
- PIRES, W.; WANNER, S. P.; LA GUARDIA, R. B.; RODRIGUES, L. O. C.; SILVEIRA, S. A.; COIMBRA, C. C.; MARUBAYASHI, U.; LIMA, N. R. V. Intracerebroventricular physostigmine enhances blood pressure and heat loss in running rats. *J. Physiol. Pharmacol. Off. J. Pol. Physiol. Soc.* n. 58, p. 3-17, 2007.
- PITTS, G. C. Body composition in the rat: interactions of exercise, age, sex, and diet. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* n. 246, p. R495-R501, 1984.
- POHL, H. Temperature regulation and cold acclimation in the golden hamster. *J. Appl. Physiol.* n. 20, p. 405-410, 1965.
- PYKE, G. H. Optimal travel speeds of animals. *Am. Nat.* n. 118, p. 475-487, 1981.
- RAKESTRAW, N. W. Chemical factors in fatigue I: the effect of muscular exercise upon certain common blood constituents. *J. Biol. Chem.* n. 47, p. 565-591, 1921.
- REZENDE, E. L.; KELLY, S. A.; GOMES, F. R.; CHAPPELL, M. A.; GARLAND, JR. T. Effects of size, sex, and voluntary running speeds on costs of locomotion in lines of laboratory mice selectively bred for high wheel-running activity. *Physiol. Biochem. Zool.* n. 79, p. 83-99, 2006.
- REZENDE, E. L.; GOMES, F. R.; CHAPPELL, M. A.; GARLAND, JR. T. Running behavior and its energy cost in mice selectively bred for high voluntary locomotor activity. *Physiol. Biochem. Zool.* n. 82, p. 662-679, 2009a.
- REZENDE, E. L.; HAMMOND, K. A.; CHAPPELL, M. A. Cold acclimation in *Peromyscus*: individual variation and sex effects in maximum and daily metabolism, organ mass and body composition. *J. Exp. Biol.* n. 212, p. 2795-2802, 2009b.
- RODRIGUES, A. G.; LIMA, N. R. V.; COIMBRA, C. C.; MARUBAYASHI, U. Intracerebroventricular physostigmine facilitates heat loss mechanisms in running rats. *J. Appl. Physiol.* n. 97, p. 333-338, 2004.
- RODRIGUES, L.; SILAMI-GARCIA, E. Fadiga: falha ou mecanismo de proteção. *Temas Atuais em Educação Física e Esportes III*. Belo Horizonte: Saúde. n. 3, p. 27-48, 1998.
- ROMANOVSKY, A. A.; IVANOV, A. I.; SHIMANSKY, Y. P. Selected contribution: ambient temperature for experiments in rats: a new method for determining the zone of thermal neutrality. *J. Appl. Physiol.* n. 92, p. 2667-2679, 2002.

- ROUTTENBERG, A.; KUZNESOF, A. W. Self-starvation of rats living in activity wheels on a restricted feeding schedule. *J. Comp. Physiol. Psychol.* n. 64, p. 414-421, 1967.
- ROWLAND, N. E.; VAUGHAN, C. H.; MATHES, C. M.; MITRA, A. Feeding behavior, obesity, and neuroeconomics. *Physiol. Behav.* n. 93, p. 97-109, 2008.
- SAMPAIO, I. B. M. Estatística aplicada à experimentação animal. Ed. FEP-MZV, Belo Horizonte, 2007. 264p.
- SATVAT, E.; EIKELBOOM, R. Dissociation of conditioned and unconditioned factors in the running-induced feeding suppression. *Physiol. Behav.* n. 89, p. 428-437, 2006.
- SCHWARTZ, M. W.; WOODS, S. C.; PORTE, D.; SEELEY, R. J.; BASKIN, D. G. Central nervous system control of food intake. *Nat.* n. 404, p. 661-671, 2000.
- SEVERINSEN, T.; MUNCH, I. C. Body core temperature during food restriction in rats. *Acta Physiol. Scand.* n. 165, p. 299-305, 1999.
- SHAMOUN-BARANES, J.; VAN LOON, E. Energetic influence on gull flight strategy selection. *J. Exp. Biol.* n. 209, p. 3489-3498, 2006.
- SHELLOCK, F. G.; RUBIN, S. A. Temperature regulation during treadmill exercise in the rat. *J. Appl. Physiol.* n. 57, p. 1872-1877, 1984.
- SHERWIN, C. M. Voluntary wheel running: a review and novel interpretation. *Anim. Behav.* n. 56, p. 11-27, 1998.
- SOARES, D. D.; LIMA, N. R. V.; COIMBRA, C. C.; MARUBAYASHI, U. Evidence that tryptophan reduces mechanical efficiency and running performance in rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* n. 74, p. 357-362, 2003.
- SOARES, D. D.; LIMA, N. R. V.; COIMBRA, C. C.; MARUBAYASHI, U. Intracerebroventricular tryptophan increases heating and heat storage rate in exercising rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* n. 78, p. 255-261, 2004.
- SPEAKMAN, JR.; MITCHELL, S. E. Caloric restriction. *Mol. Aspects Med.* n. 32, p. 159-221, 2011.
- STUBBS, R. J.; SEPP, A.; HUGHES, D. A.; JOHNSTONE, A. M.; HORGAN, G. W.; KING, N. A.; BLUNDELL, J. E. The effect of graded levels of exercise on energy intake and balance in free-living men, consuming their normal diet. *Eur. J. Clin. Nutr.* n. 56, p. 129-140, 2002.
- SWALLOW, J. G.; HAYES, J. P.; KOTEJA, P.; GARLAND, JR. T. Selection experiments and experimental evolution of performance and physiology. In: GARLAND, JR. T.; ROSE, M. R. *Experimental evolution: concepts, methods, and applications of selection experiments*. University of California Press, Berkeley, California, p. 301-351, 2009.

- TAUBES, G. The science of obesity: what do we really know about what makes us fat? An essay by Gary Taubes. *BMJ*. n. 346, p. 1050, 2013.
- TAYLOR, B. A.; PHILLIPS, S. J. Detection of obesity QTLs on mouse chromosomes 1 and 7 by selective DNA pooling. *Genom.* n. 34, p. 389-398, 1996.
- TAYLOR, C. R.; HEGLUND, N. C.; MALOIY, G. M. Energetics and mechanics of terrestrial locomotion. I. Metabolic energy consumption as a function of speed and body size in birds and mammals. *J. Exp. Biol.* n. 97, p. 1-21, 1982.
- TOKUYAMA, K.; SAITO, M.; OKUDA, H. Effects of wheel running on food intake and weight gain of male and female rats. *Physiol. Behav.* n. 28, p. 899-903, 1982.
- THORNHILL, J.; HALVORSON, I. Brown adipose tissue thermogenic responses of rats induced by central stimulation: effect of age and cold acclimation. *J. Physiol.* n. 426, p. 317-333, 1990.
- TUCKER, R.; NOAKES, T. D. The physiological regulation of pacing strategy during exercise: a critical review. *Br. J. Sports Med.* n. 43, p. 1-9, 2009.
- VAANHOLT, L. M.; DE JONG, B.; GARLAND, JR. T.; DAAN, S.; VISSER, G. H. Behavioural and physiological responses to increased foraging effort in male mice. *J. Exp. Biol.* n. 210, p. 2013-2024, 2007.
- WANNER, S. P.; GUIMARÃES, J. B.; RODRIGUES, L. O. C.; MARUBAYASHI, U.; COIMBRA, C. C.; LIMA, N. R. V. Muscarinic cholinergic receptors in the ventromedial hypothalamic nucleus facilitate tail heat loss during physical exercise. *Brain Res. Bull.* n. 73, p. 28-33, 2007.
- WANG, L. C. H. Effects of fasting on maximum thermogenesis in temperature-acclimated rats. *Int. J. Biomet.* n. 25, p. 235-241, 1981.
- WEINDRUCH, R.; KAYO, T.; LEE, C. K.; PROLLA, T. A. Microarray profiling of gene expression in aging and its alteration by caloric restriction in mice. *J. Nutr.* n. 131, p. 918S-923S, 2001.
- WEINSTEIN, R. B. Locomotor behavior of nocturnal ghost crabs on the beach: focal animal sampling and instantaneous velocity from three-dimensional motion analysis. *J. Exp. Biol.* n. 198, p. 989-999, 1995.
- WELLS, J. C. The evolution of human fatness and susceptibility to obesity: an ethological approach. *Biol. Rev.* n. 81, p. 183-205, 2006.
- WILSON, N. C.; GISOLFI, C. V.; FARBER, J.; HINRICHS, D. K. Colonic and tail-skin temperature responses of the rat at selected running speeds. *J. Appl. Physiol.* n. 44, p. 571-575, 1978.
- YOUNG, R. J.; LAWRENCE, A. B. The effects of high and low rates of food reinforcement on the behaviour of pigs. *Appl. Anim. Behav. Sci.* n. 49, p. 365-374, 1996.

ANEXOS

ANEXO A: protocolo de Aprovação do Comitê de Ética em Experimentação Animal/UFMG.



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COMITÊ DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL
- CETEA -**

CERTIFICADO

Certificamos que o **Protocolo nº 180/2010**, relativo ao projeto intitulado "**Efeito do ambiente quente sobre a taxa de esforço diária máxima durante a atividade espontânea de ratos para a obtenção de alimentos**", que tem como responsável(is) **Luiz Oswaldo Carneiro Rodrigues**, 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 **8/09/2010**.

Este certificado expira-se em **8/09/2015**.

CERTIFICATE

We hereby certify that the **Protocol nº 180/2010**, related to the project entitled "**Effect of the hot ambient on daily maximal rate of effort during spontaneous activity rats for food**", under the supervisors of **Luiz Oswaldo Carneiro Rodrigues**, is in agreement with the Ethical Principles in Animal Experimentation, adopted by the **Ethics Committee in Animal Experimentation (CETEA/UFMG)**, and was approved in **September 8, 2010**.

This certificate expires in **September 8, 2015**.

Belo Horizonte, 10 de Setembro de 2010.

Profª. 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) 3499-4515
www.ufmg.br/bioetica/cetea - cetea@ufmg.br

APÊNDICES

Apêndice A: dados protocolo 1

Massa corporal – protocolo 1:

	R1	R2	R3	R4	R5	MÉDIA	DESVIO	ERRO
FAMIL	238	258	258	244	253	250	8,8	3,9
66	277	286	286	269	270	278	8,5	3,8
76	288	295	291	267	280	284	11,1	5,0
85	299	306	295	285	294	296	7,8	3,5
95	308	314	293	288	303	301	10,7	4,8
105	322	326	295	299	320	312	14,2	6,3
115	327	331	290	305	327	316	17,7	7,9
125	337	343	309	319	334	328	13,9	6,2
135	340	351	313	324	342	334	15,1	6,8
144	340	356	317	327	337	335	14,6	6,5
154	343	360	323	328	344	340	14,8	6,6
164	343	365	319	330	345	341	17,4	7,8
174	351	368	319	335	341	343	18,3	8,2
184	353	375	320	337	333	343	21,3	9,5
194	349	366	316	343	348	344	18,2	8,1
204	353	369	320	344		347	20,4	9,1
213	364	374	322	345		351	23,0	10,3
223	367	360	317	345	349	348	19,3	8,6
233	369	371	324	346	364	355	19,6	8,8
243	371	375	322	354	361	357	20,8	9,3
253	365	373	324	352	360	355	18,8	8,4
263	367	374	316	353	362	354	22,9	10,3
273	367	376	314	353	362	354	24,2	10,8
283	366	374	311	343	358	350	25,0	11,2
293	368	378	301	348	364	352	30,3	13,6
302	365	373	307	346	368	352	27,2	12,2
312	366	370	301	349	372	352	29,8	13,3
322	365	365	297	347	370	349	30,1	13,4
332	362	367	293	342	367	346	31,4	14,1
342	362	365	302	341	367	347	27,4	12,3
352	361	366	293	341	362	344	30,5	13,7
362	358	364	288	342	361	343	31,8	14,2
371	353	356	288	342	358	339	29,6	13,2
381	355	350	288	332	358	336	28,9	12,9
391	355	346	286	338	360	337	29,5	13,2
401	351	343	284	336	361	335	30,0	13,4
411	354	340	277	338	357	333	32,2	14,4
421	349	334	277	332	354	329	30,7	13,7
431	345	330	273	330	350	326	30,6	13,7

441	336	326	272	323	345	320	28,3	12,7
450	332	313	266	319	345	315	30,3	13,5
460	325	308	268	321	337	312	26,4	11,8
470	323	301	265	319	333	308	26,9	12,1
480	320	295	256	315	329	303	29,0	13,0
490	316	293	260	312	327	302	26,1	11,7
500	308	291	266	319	327	302	24,3	10,9
510	302	290	261	293	312	292	19,1	8,5
519	303	286	258	303	312	292	21,3	9,5
529	301	282	257	295	311	289	20,6	9,2
539	295	284	252	294	307	286	21,1	9,4

Quantidade de alimento ingerido – protocolo 1:

	R1	R2	R3	R4	R5	MÉDIA	DESVIO	ERRO
FAMIL	23	24	24	20	22	23	2	1
66	22	23	24	23	20	23	1	1
76	24	21	21	32	25	25	4	2
85	25	24	16	26	16	21	5	2
95	24	25	16	25	23	23	4	2
105	24	25	16	25	25	23	4	2
115	26	26	20	25	25	24	2	1
125	22	26	22	26	23	24	2	1
135	23	26	25	24	26	24	1	1
144	20	26	22	21	25	23	2	1
154	21	23	21	21	25	22	2	1
164	20	25	18	21	18	20	3	1
174	21	22	19	21	23	21	2	1
184	21	25	19	22	17	21	3	1
194	19	16	16	22		18	3	1
204	24	15	25	22		22	5	2
213	23	23	18	21		21	2	1
223	22	12	18	22		18	5	2
233	23	27	21	21	17	22	4	2
243	21	25	16	23	20	21	3	1
253	21	22	19	21	22	21	1	1
263	20	21	14	21	24	20	4	2
273	22	20	15	19	22	20	3	1
283	23	20	14	22	22	20	4	2
293	23	22	12	22	25	21	5	2
302	24	20	18	19	25	21	3	1
312	24	19	14	20	24	20	4	2
322	25	19	15	19	23	20	4	2

332	24	21	13	20	23	20	5	2
342	24	19	18	18	23	20	3	1
352	25	19	11	21	22	20	5	2
362	25	21	16	21	24	21	4	2
371	22	16	14	20	21	18	4	2
381	25	17	15	11	24	18	6	3
391	25	17	16	20	24	20	4	2
401	22	15	16	20	22	19	3	2
411	24	17	13	21	22	19	4	2
421	24	15	12	18	23	19	5	2
431	25	19	15	18	22	20	4	2
441	24	18	13	17	22	19	4	2
450	19	11	12	15	21	15	4	2
460	19	14	18	18	21	18	3	1
470	19	14	13	18	18	16	3	1
480	16	15	13	16	18	15	2	1
490	18	15	16	17	20	17	2	1
500	15	15	18	18	19	17	2	1
510	17	12	12		11	13	3	1
519	18	15	12	19	18	16	3	1
529	19	16	15	15	19	17	2	1
539	17	16	12	16	18	16	2	1

Distância percorrida – protocolo 1:

	R1	R2	R3	R4	R5	MÉDIA	DESVIO	ERRO
FAMIL	1262	924	384	3411	1510	1498	1149	514
66	1259	1228	1330	1388	1755	1392	213	95
76	1838	2240	1510	1772		1840	302	151
85	2134	2517	1347	2743	1525	2053	607	272
95	2287	2690	1593	3174	2476	2444	579	259
105	2534	2618	1732	2970	2516	2474	453	203
115	2611	2789		3099	2609	2777	231	115
125	2639	2968	1621	3048	2492	2554	569	255
135	2520	3251	2576	2639	891	2375	880	394
144	2869	3625	3089	2858		3110	360	180
154	2049	3551	2859	3105	1588	2630	798	357
164	3286	3727	2907	3247	3089	3251	305	136
174	3479	3829	3256	3806	2107	3296	706	316
184	3673	4224	3184	3877	1686	3329	993	444
194	2546	3792	2582	4016		3234	779	389
204	4207	3728	3217	4406		3889	531	265
213	4545	5534	4143	4026		4562	685	343

223	4947	1384	2255	4672		3314	1766	883
233	4899	5515	4000	4614	2776	4361	1040	465
243	4472	5464	4213	4812	6077	5008	760	340
253	5157	5624	3916	4676	5436	4962	685	306
263	5356	5155	3853	5235	6170	5154	832	372
273	5890	5471	4100	5086	6601	5430	931	417
283	6082	5670	3543	2639	6348	4857	1660	743
293	7064	5910	4030	5296	8331	6126	1648	737
302	7857	5538	4839	5474	8337	6409	1574	704
312	7509	5829	4477	5834	7521	6234	1294	579
322	8900	6099	4044	5877	8124	6609	1931	864
332	8483	6466	6115	5899	7964	6986	1163	520
342	8398	6900	3898	6434	8626	6851	1900	850
352	9369	7035	3924	6578	8800	7141	2144	959
362	7899	5379	5561	6319	8334	6698	1351	604
371	9997	6470	5742	7283	10404	7979	2105	941
381	10356	11327	5868	6224	8192	8394	2428	1086
391	9201	5747	5652	7181	8868	7330	1674	749
401	9328	6489	4839	7483	8149	7258	1701	761
411	14863	7039	5637	7126	10283	8990	3698	1654
421	8891	6169	4287	6729	9072	7030	1999	894
431	10808	7657	6247	7584	9493	8358	1792	801
441	9546	9718	5719	7378	9230	8318	1728	773
450	8758	5299	5991	7361	9260	7334	1709	764
460	8596	6126	7520	7649	9717	7922	1336	597
470	7609	5792	5575	7235	5367	6315	1030	460
480	6978	7171	6565	7040	9362	7423	1107	495
490	7838	7050	8489	9141	8235	8151	777	347
500	8648	7330	5925	5509	7283	6939	1252	560
510	8257	5434	5442		7204	6584	1391	696
519	9437	8359	7510	7632	9625	8513	987	441
529	11063	8419	6138	8456	7960	8407	1761	788
539	8762	7906	5825	8648	7909	7810	1180	528

Distância percorrida na fase clara – protocolo 1:

	R1	R2	R3	R4	R5	MÉDIA	DESVIO	ERRO
FAMIL	829	192	542	1951	516	806	679	304
66	376	212	188	381	164	264	106	47
184	697	402	3750	942	2088	1576	1373	614
302	476	121	4862	727	4663	2170	2377	1063
539	108	5	6289	132	8022	2911	3923	1754

Distância percorrida na fase escura – protocolo 1:

	R1	R2	R3	R4	R5	MÉDIA	DESVIO	ERRO
FAMIL	1088	1269	631	3667	1813	1694	1181	528
66	1269	1781	1495	1737	1860	1628	243	109
184	3523	4373	1311	3172	1233	2722	1394	624
302	7635	5397	2034	5053	4812	4986	1996	893
539	8726	7905	1239	8575	9	5291	4293	1920

Velocidade média – protocolo 1:

	R1	R2	R3	R4	R5	MÉDIA	DESVIO	ERRO
FAMIL	21	23	12	25	18	20	5	2
66	24	30	25	28	21	26	4	2
76	25	29	19	32		26	6	3
85	22	27	14	29	24	23	6	3
95	26	26	15	29	26	24	5	2
105	22	26	15	27	24	23	5	2
115	24	26		28	26	26	2	1
125	22	26	25	30	24	25	3	1
135	22	26	25	30		26	3	2
144	22	26	28	32		27	4	2
154	24	25	27	31		27	3	2
164	26	26	26	31		27	3	1
174	24	30	25	30	29	27	3	1
184	28	28	26	33	20	27	5	2
194	25	24	29	34		28	5	2
204	29	24	28	33		29	4	2
213	28	29	28	32		29	2	1
223	26	21	24	33		26	5	3
233	27	30	32	34	28	30	3	1
243	27	28	31	37	32	31	4	2
253	27	28	31	32	29	29	2	1
263	29	29	30	32	30	30	1	1
273	28	25	30	32	29	29	3	1
283	30	25	29	37	31	30	4	2
293	30	24	27	35	32	30	4	2
302	30	26	31	35	32	31	3	1
312	32	25	31	35	32	31	4	2
322	34	25	32	34	31	31	3	2
332	33	24	30	34	30	30	4	2
342	32	25	32	34	31	31	3	1
352	30	26	28	36	34	31	4	2
362	31	24	30	29	32	29	3	1

371	32	26	31	34	34	32	3	1
381	34	24	32	35	33	32	5	2
391	32	21	31	32	33	30	5	2
401	32	27	29	34	31	30	3	1
411	31	24	28	29	33	29	3	2
421	31	24	28	33	29	29	3	2
431	31	27	30	34	31	30	2	1
441	30	25	31	31	34	30	3	1
450	29	21	31	32	33	29	5	2
460	28	25	31	33	33	30	4	2
470	29	22	32	29	28	28	3	2
480	27	22	31	33	30	29	4	2
490	29	25	33	34	31	30	4	2
500	27	25	31	28	29	28	2	1
510	31	26	31	23	29	28	3	2
519	30	30	31	29	34	31	2	1
529	31	31	31	35	30	32	2	1
539	28	28	31	33	33	31	2	1

Velocidade média na fase clara – protocolo 1:

	R1	R2	R3	R4	R5	MÉDIA	DESVIO	ERRO
FAMIL	14,79	11,16	10,73	20,56	10,64	14	4	2
66	19,36	18,24	16,30	22,37	10,56	17	4	2
184	17,09	12,42	26,67	22,45	17,45	19	5	2
302	10,55	10,38	29,97	23,54	29,75	21	10	4
539	13,89	4,03	33,39	16,97	36,09	21	14	6

Velocidade média na fase escura – protocolo 1:

	R1	R2	R3	R4	R5	MÉDIA	DESVIO	ERRO
FA MIL	22	25	15	27	20	22	5	2
66	26	34	26	31	21	28	5	2
184	26	24	22	31	19	24	4	2
302	33	25	22	37	33	30	6	3
539	31	31	27	39	7	27	12	5

Temperatura colônica – protocolo 1:

	R1	R2	R3	R4	R5	MÉDIA	DESVIO	ERRO
154	37,3	37,0	36,9	37,4	37,2	37,2	0,2	0,1
184	37,3	37,0	37,1		36,7	37,0	0,3	0,1
243	36,7	36,6	36,9	36,8	37,3	36,9	0,2	0,1

302	36,1	35,8	36,3	36,1	36,5	36,2	0,3	0,1
362	36,3	35,4	36,7	35,6	36,1	36,0	0,5	0,2
421	36,4	36,3	36,7	35,7	36,2	36,3	0,3	0,1
480	36,8	35,3	36,6	35,5	36,6	36,1	0,7	0,3
539	36,2	36,1		35,6		36,0	0,3	0,2

Apêndice B: dados protocolo 2

Grupo com vínculo entre o exercício e o fornecimento de alimento (CV)

Massa corporal – protocolo 2, grupo CV:

	R6	R8	R11	R12	R14	MÉDIA	DESVIO	ERRO
CHEGADA	187	185	184	196	195	189	6	3
FAMIL EST.	227	227	231	244	239	234	8	3
PROG.	274	277	291	301	292	287	11	5
-16	281	291	301	317	309	300	14	6
-10	309	322	324	335	334	325	11	5
3	329	331	332	336	350	336	8	4
6	330	332	332	339	353	337	10	4
9	329	324	323	340	350	333	12	6
12	330	332	334	341	350	337	8	4
15	332	324	317	344	349	333	13	6
18	333	328	306	349	350	333	18	8
21	334	319	307	345	341	329	16	7
24	328	316	304	332	330	322	12	5
27	322	314	297	329	322	317	12	6
30	309	297	290	322	313	306	13	6
33	303	299	281	314	298	299	12	5
36	306	288	274	303	285	291	13	6
39	298	277	272	300	281	286	13	6
42	288	271	266	292	280	279	11	5

Quantidade de alimento ingerido – protocolo 2, grupo CV:

	R6	R8	R11	R12	R14	MÉDIA	DESVIO	ERRO
-16	22	25	24	27	27	25	2	1
-10	24	28	22	23	26	25	2	1
3	20	10	24	12	24	18	7	3
6	23	19	22	22	24	22	2	1
9	22	18	18	25	24	21	3	1
12	23	18	20	23	25	22	3	1
15	24	19	11	25	24	21	6	3
18	20	17	12	24	23	19	5	2
21	23	19	15	23	22	20	3	2
24	21	20	19	22	19	20	1	1
27	20	18	14	19	19	18	2	1
30	19	16	13	22	13	17	4	2
33	20	22	12	17	16	17	4	2
36	19	16	12	16	14	15	3	1
39	20	13	12	19	14	16	4	2
42	16	12	11	16	14	14	2	1

Distância percorrida – protocolo 2, grupo CV:

	R6	R8	R11	R12	R14	MÉDIA	DESVIO	ERRO
-10	1247,3	547	929,2	1769,2	2063,333	1311	614	275
3	1112	914	1347	1360	2250	1397	511	229
6	2410	1841	1939	3057	3229	2495	632	283
9	3233	1923	2086	4415	5210	3373	1435	642
12	5000	3830	2058	4981	6049	4384	1519	679
15	6613	4594	2939	6627	5879	5330	1572	703
18	6833	5211	3715	7158	6141	5812	1389	621
21	7941	6398	5307	7508	8074	7046	1174	525
24	8033	7291	6592	9626	6176	7544	1362	609
27	7958	7795	6650	9617	7902	7984	1059	474
30	9097	8630	6249	9297	8372	8329	1219	545
33			9493		9770	9632	196	139
36	12066	9335	7001	10489	5821	8942	2540	1136
39	10563		6317	11218		9366	2661	1536
42		9998	7195	11491	7465	9037	2066	1033

Distância percorrida na fase clara – protocolo 2, grupo CV:

	R6	R8	R11	R12	R14	MÉDIA	DESVIO	ERRO
-10	165	8	220	67	235	139	98	44
3	124	53	166	75	345	153	116	52
6	349	224	173	191	657	319	201	90
9	651	532	1075	785	1648	938	445	199
12	2327	1063	757	1312	2336	1559	732	327
15	1654	1435	1202	2280	2507	1816	557	249
18	639	2280	2247	2510	2215	1978	758	339
21	1623	3411	3742	3181	2858	2963	816	365
24	1453	3820	3803	3071	2772	2984	970	434
27	2529	3470	4195	4623	4011	3766	806	360
30	2035	5749	3702	4925	4631	4208	1418	634
33			6639		6670	6654	22	16
36	7073	8315	6033	7048	5157	6725	1193	533
39	4901		4316	6513		5243	1138	657
42		7789	5226	7869	6638	6881	1238	619

Distância percorrida na fase escura – protocolo 2, grupo CV:

	R6	R8	R11	R12	R14	MÉDIA	DESVIO	ERRO
-10	1082	540	709	1702	1699	1146	542	243
3	988	860	1181	1285	1905	1244	405	181
6	2062	1617	1766	2866	2572	2177	531	237
9	2582	1392	1011	3630	3562	2435	1208	540
12	2673	2767	1301	3669	3713	2825	981	439
15	4959	3159	1737	4347	3372	3515	1233	552
18	6194	3691	1468	4648	3926	3985	1714	766
21	6318	2987	1565	4327	5216	4083	1863	833
24	6580	3471	2789	6555	3404	4560	1852	828
27	5429	4325	2455	4994	3891	4219	1151	515
30	7061	2881	2547	4372	3742	4120	1794	802
33			2854		3100	2977	174	123
36	4993	1020	967	3442	664	2217	1911	855
39	5662		2001	4704		4123	1899	1096
42		2209	1968	3622	1241	2260	997	498

Velocidade média – protocolo 2, grupo CV:

	R6	R8	R11	R12	R14	MÉDIA	DESVIO	ERRO
-10	23	15	12	21	21	18	5	2
3	24	21	17	22	28	23	4	2
6	30	22	18	28	29	26	5	2
9	28	23	15	31	32	26	7	3
12	34	26	14	31	32	27	8	4
15	37	28	21	32	31	30	6	3
18	36	26	24	33	29	30	5	2
21	34	27	25	33	40	32	6	3
24	35	30	26	33	29	31	4	2
27	39	30	35	47	34	37	6	3
30	41	34	26	34	36	34	6	3
33		32			28	30	3	1
36	34	34	27	35	29	32	3	2
39	40		30	34		35	5	3
42		32	30	45	33	35	7	3

Velocidade média na fase clara – protocolo 2, grupo CV:

	R6	R8	R11	R12	R14	MÉDIA	DESVIO	ERRO
-10	21	9	12	15	18	15	5	2
3	25	16	13	15	29	19	7	3
6	28	22	12	23	35	24	9	4
9	28	23	15	30	35	26	8	3
12	40	28	11	31	34	29	11	5
15	35	30	21	32	37	31	6	3
18	28	27	26	33	30	29	3	1
21	32	29	28	34	33	31	2	1
24	32	31	30	33	33	32	1	1
27	41	32	49	41	33	39	7	3
30	42	38	27		33	35	6	3
33		34			29	32	4	3
36	40	38	29	38	31	35	5	2
39	44		32	33		36	7	4
42		33	33	50	35	38	9	4

Velocidade média na fase escura – protocolo 2, grupo CV:

	R6	R8	R11	R12	R14	MÉDIA	DESVIO	ERRO
-10	23	16	12	22	23	19	5	2
3	24	23	18	25	28	24	4	2
6	30	23	21	30	26	26	4	2
9	28	22	14	32	30	25	7	3
12	30	25	16	32	30	26	7	3
15	38	27	21	33	26	29	7	3
18	39	26	21	34	28	29	7	3
21	36	26	20	33	42	32	9	4
24	35	28	22	34	27	29	5	2
27	37	29	19	34	36	31	7	3
30	42	24	24	32	36	32	8	3
33		28			24	26	3	2
36	29	25	21	29	26	26	3	2
39	37		28	35		33	5	3
42		30	24	33	31	29	4	2

Velocidade máxima – protocolo 2, grupo CV:

	R6	R8	R11	R12	R14	MÉDIA	DESVIO	ERRO
-10	83	71	65	72	68	72	7	3
3	91	88	94	81	84	87	5	2
6	100	90	94	91	83	91	6	3
9	94	81	107	100	88	94	10	5
12	92	78	83	93	83	86	7	3
15	96	79	91	90	78	87	8	3
18	86	72	81	95	80	83	8	4
21	83	71	76	91	78	80	7	3
24	88	74	76	91	79	81	7	3
27	91	70	69	89	82	80	10	4
30	89	72	69	86	76	78	9	4
33		72			71	72	1	1
36	78	73	69	80	72	75	4	2
39	88		73	81		81	7	4
42		73	74	79	80	76	3	2

Temperatura colônica – protocolo 2, grupo CV:

	R6	R8	R11	R12	R14	MÉDIA	DESVIO	ERRO
-16	38,1	37,7	37,7	37,8	37,7	37,8	0,2	0,1
-10	38,2	37,6	37,7	37,7	37,7	37,8	0,2	0,1
3	38,3	37,5	37,4	37,5	37,5	37,6	0,4	0,2
6	38,3	37,1	37,1	37,4	37,3	37,4	0,5	0,2
9	37,7	37,0	38,2	36,9	37,1	37,4	0,5	0,2
12	37,3	37,0	37,2	37,4	37,2	37,2	0,2	0,1
15	37,4	36,9	37,2	36,7	36,9	37,1	0,3	0,1
18	37,8	36,8	37,4	36,8	37,1	37,1	0,4	0,2
21	37,4	36,6	37,0	36,7	36,7	36,9	0,3	0,1
24	37,0	36,6	36,0	36,3	36,6	36,5	0,4	0,2
27	36,9	36,1	36,0	36,2	36,4	36,3	0,3	0,2
30	36,6	36,4	36,1	36,5	36,5	36,4	0,2	0,1
33	36,7	36,4	36,1	36,7	37,0	36,6	0,3	0,2
36	36,8	36,8	36,3	36,6	37,1	36,7	0,3	0,1
39	36,5	36,3	36,6	36,4	37,1	36,6	0,3	0,1
42	36,6	36,2	36,2	36,2	36,8	36,4	0,3	0,1

Grupo sem vínculo entre o exercício e o fornecimento de alimento (SV)

Massa corporal – protocolo 2, grupo SV:

	R16	R17	R18	R19	R21	MÉDIA	DESVIO	ERRO
CHEGADA	211	205	204	206	201	205	4	2
FAMIL EST.	263	247	244	243	259	251	9	4
PROG.	297	271	271	268	295	280	14	6
-16	314	288	280	284	312	296	16	7
-10	332	301	306	312	335	317	15	7
3	350	317	320	327	351	333	17	7
6	360	328	327	334	356	341	16	7
9	370	335	334	339	371	350	19	8
12	378	342	342	349	375	357	18	8
15	386	349	346	347	382	362	20	9
18	391	351	349	352	387	366	21	9
21	399	357	356	362	393	373	21	9
24	406	366	363	367	398	380	20	9
27	414	373	371	369	405	386	21	10
30	421	376	372	371	409	390	23	10
33	424	382	374	376	415	394	24	11
36	434	384	377	383	416	399	25	11
39	437	385	381	385	420	401	25	11
42	445	387	384	392	429	407	28	12

Quantidade de alimento ingerido – protocolo 2, grupo SV:

	R16	R17	R18	R19	R21	MÉDIA	DESVIO	ERRO
-16	31	28	27	26	30	28	2	1
-10	23	22	27	27	24	25	2	1
3	25	23	25	25	24	24	1	0
6	25	25	25	26	25	25	0	0
9	25	24	25	25	24	24	1	0
12	25	25	24	25	25	25	0	0
15	25	25	25	23	25	24	1	0
18	25	24	25	25	25	25	0	0
21	25	24	25	25	25	25	0	0
24	25	25	25	24	25	25	0	0
27	25	25	25	25	25	25	0	0
30	25	25	25	25	25	25	0	0
33	24	25	25	24	25	25	1	0
36	24	25	25	25	25	25	0	0
39	25	25	25	25	25	25	0	0
42	24	25	25	25	25	25	0	0

Distância percorrida – protocolo 2, grupo SV:

	R16	R17	R18	R19	R21	MÉDIA	DESVIO	ERRO
-10		663	239	639	602	536	200	89
3	5	842	663	678	952	628	368	165
6	260	1132	750	975	1153	854	369	165
9	505	727	850	884	1072	808	209	94
12	527	1170	799	1058	762	863	255	114
15	453	771	836	1723	764	909	479	214
18	237	757	584	948	308	567	299	134
21	460	1164	836	1732	846	1008	476	213
24	826	1452	887	2257	1056	1296	590	264
27	723	1561	664	1962	905	1163	571	255
30	486	3399	785	1699	1202	1514	1148	513
33	532	2621	753	1711	928	1309	857	383
36	486	3993	787	1699	1018	1597	1412	632
39	406	3068	789	1632	830	1345	1062	475
42	594	4648	698	1617	548	1621	1748	782

Distância percorrida na fase clara – protocolo 2, grupo SV:

	R16	R17	R18	R19	R21	MÉDIA	DESVIO	ERRO
-10	4	12	43	31	11	20	16	7
3		1	22	13	3	10	10	5
6	2	16	48	12	61	28	26	11
9	1	53	43	33	13	29	21	10
12	2	34	84	77	2	40	39	18
15		39	61	638	3	185	303	151
18		65	86	166	10	82	65	32
21	5	42	80	505	55	138	207	93
24	5	78	55	458	124	144	181	81
27	2	105	47	258	112	105	96	43
30	2	61	65	148	61	68	52	23
33	16	56	21	180	63	67	66	30
36	47	182	85	171	424	182	147	66
39	15	20	94	167	192	98	81	36
42	10	176	54	167	119	105	72	32

Distância percorrida na fase escura – protocolo 2, grupo SV:

	R16	R17	R18	R19	R21	MÉDIA	DESVIO	ERRO
-10	5	653	195	609	598	412	293	131
3	5	842	641	665	949	621	367	164
6	259	1116	702	963	1112	831	361	161
9	505	692	807	851	1063	784	206	92
12	525	1136	715	980	760	823	238	107
15	453	732	776	1085	761	761	224	100
18	237	714	527	782	301	512	242	108
21	458	1122	755	1227	791	871	308	138
24	822	1374	831	1799	933	1152	427	191
27	722	1456	617	1704	793	1058	488	218
30	484	3338	720	1551	1141	1447	1133	507
33	522	2564	732	1531	865	1243	830	371
36	439	3811	702	1527	594	1415	1404	628
39	396	3048	695	1465	638	1248	1083	484
42	588	4472	644	1451	429	1517	1699	760

Velocidade média – protocolo 2, grupo SV:

	R16	R17	R18	R19	R21	MÉDIA	DESVIO	ERRO
-10	5	12	5	15	14	10	5	2
3	4	14	10	15	16	12	5	2
6	14	16	10	16	20	15	4	2
9	20	16	11	18	20	17	4	2
12	21	15	10	19	20	17	5	2
15	23	17	12	22	19	19	4	2
18	24	20	11	25	18	20	6	2
21	28	19	12	24	20	20	6	3
24	27	22	12	27	22	22	6	3
27	31	20	11	25	21	21	7	3
30	27	24	12	22	22	21	6	3
33	24	23	12	25	20	21	5	2
36	23	25	11	24	22	21	5	2
39	28	27	12	24	21	23	6	3
42	28	27	11	23	20	22	7	3

Velocidade média na fase clara – protocolo 2, grupo SV:

	R16	R17	R18	R19	R21	MÉDIA	DESVIO	ERRO
-10	5	9	4	11	6	7	3	1
3		9	5	12	8	9	3	1
6	7	14	7	10	16	11	4	2
9	7	14	7	16	11	11	4	2
12	9	14	5	17	6	10	5	2
15		17	8	35	10	18	12	6
18		19	7	23	12	15	7	4
21	17	14	8	32	14	17	9	4
24	12	19	9	27	18	17	7	3
27	9	17	7	23	21	15	7	3
30	9	17	7	19	15	13	6	2
33	12	17	6	19	16	14	5	2
36	16	15	7	18	22	16	6	3
39	22	17	9	23	22	19	6	3
42	20	19	7	20	26	18	7	3

Velocidade média na fase escura – protocolo 2, grupo SV:

	R16	R17	R18	R19	R21	MÉDIA	DESVIO	ERRO
-10	5	12	5	16	15	11	6	2
3	4	14	12	15	17	12	5	2
6	14	17	12	18	20	16	3	1
9	20	17	13	18	21	18	3	1
12	22	15	13	20	22	18	4	2
15	23	17	14	18	20	18	3	1
18	24	20	13	25	20	20	5	2
21	28	20	14	22	23	21	5	2
24	30	23	13	27	24	23	6	3
27	32	21	12	25	21	22	7	3
30	30	25	15	23	24	23	5	2
33	28	25	13	27	22	23	6	3
36	26	28	14	26	21	23	6	3
39	28	29	14	24	22	24	6	3
42	29	29	13	26	16	22	8	3

Velocidade máxima – protocolo 2, grupo SV:

	R16	R17	R18	R19	R21	MÉDIA	DESVIO	ERRO
-10	18	63	26	79	67	51	27	12
3	16	78	73	92	104	73	34	15
6	43	82	79	101	125	86	30	13
9	70	89	76	103	122	92	21	9
12	81	95	60	105	121	92	23	10
15	97	88	80	95	127	97	18	8
18	108	94	78	106	123	102	17	8
21	108	91	84	104	105	98	10	5
24	102	98	82	106	110	100	11	5
27	120	85	84	99	111	100	16	7
30	118	77	81	99	114	98	19	8
33	110	98	89	109	115	104	11	5
36	116	87	91	105	116	103	13	6
39	127	95	91	103	110	105	14	6
42	132	96	85	98	105	103	18	8

Temperatura colônica – protocolo 2, grupo SV:

	R16	R17	R18	R19	R21	MÉDIA	DESVIO	ERRO
-16	37,2	38,4	37,9	38,6	38,2	38,1	0,6	0,2
-10	37,8	38,2	38,1	38,3	38,0	38,1	0,2	0,1
3	37,3	37,8	37,9	37,7	38,3	37,8	0,4	0,2
6	37,2	37,8	37,9	37,8	37,5	37,6	0,3	0,1
9	37,1	37,6	37,8	37,6	37,3	37,5	0,3	0,1
12	37,0	37,7	37,8	37,4	37,5	37,5	0,3	0,1
15	37,1	37,7	37,5	37,8	37,3	37,5	0,3	0,1
18	37,0	37,8	37,8	37,8	37,3	37,5	0,3	0,2
21	36,8	37,4	37,7	37,7	37,3	37,4	0,4	0,2
24	37,4	37,5	37,6	37,8	37,1	37,5	0,3	0,1
27	36,8	37,3	37,8	38,0	37,7	37,5	0,5	0,2
30	36,5	37,9	37,6	38,1	37,4	37,5	0,6	0,3
33	37,5	37,7	37,6	38,1	37,5	37,7	0,2	0,1
36	37,0	37,6	37,4	37,3	37,5	37,3	0,2	0,1
39	37,1	37,7	37,9	38,1	37,5	37,7	0,4	0,2
42	36,8	37,8	37,6	37,8	37,8	37,6	0,5	0,2

Grupo sedentário (SED)

Massa corporal – protocolo 2, grupo SED:

	R7	R9	R10	R13	R15	MÉDIA	DESVIO	ERRO
CHEGADA	188	199	201	200	191	195	6	3
FAMIL EST.	245	243	239	240	241	242	3	1
PROG.	307	303	285	281	301	295	11	5
-16	324	329	296	296	313	311	15	7
-10	360	376	314	339	349	347	23	10
3	377	395	320	361	371	365	28	13
6	378	395	324	363	375	367	26	12
9	380	399	331	364	379	371	25	13
12	384	402	320	369	384	372	31	14
15	389	405	323	374	388	376	31	14
18	393	410	333	379	397	382	30	13
21	401	412	344	386	405	390	27	12
24	408	422	352	393	412	397	27	12
27	412	423	358	402	418	403	26	12
30	419	427	366	406	426	409	25	11
33	421	426	370	409	432	412	25	11
36	424	426	376	411	433	414	23	10
39	432	425	381	411	438	417	23	10
42	436	420	394	415	447	422	20	9

Quantidade de alimento ingerido – protocolo 2, grupo SED:

	R7	R9	R10	R13	R15	MÉDIA	DESVIO	ERRO
-16	27,0	30,0	26,0	26,0	26,0	27,0	1,7	0,8
-10	29,0	31,0	29,0	29,0	28,0	29,2	1,1	0,5
3	24,0	24,0	25,0	25,0	25,0	24,6	0,5	0,2
6	24,0	24,0	24,0	24,0	24,0	24,0	0,0	0,0
9	24,0	24,0	24,0	24,0	24,0	24,0	0,0	0,0
12	24,0	24,0	25,0	24,0	24,0	24,2	0,4	0,2
15	24,0	24,0	24,0	24,0	24,0	24,0	0,0	0,0
18	24,0	25,0	24,0	24,0	25,0	24,4	0,5	0,2
21	25,0	25,0	24,0	24,0	25,0	24,6	0,5	0,2
24	24,0	24,0	25,0	25,0	25,0	24,6	0,5	0,2
27	24,0	24,0	24,0	24,0	24,0	24,0	0,0	0,0
30	25,0	24,0	24,0	24,0	24,0	24,2	0,4	0,2
33	25,0	24,0	24,0	24,0	24,0	24,2	0,4	0,2
36	24,0	24,0	24,0	24,0	25,0	24,2	0,4	0,2
39	24,0	24,0	24,0	24,0	24,0	24,0	0,0	0,0
42	24,0	24,0	24,0	24,0	24,0	24,0	0,0	0,0

Temperatura colônica – protocolo 2, grupo SED:

	R7	R9	R10	R13	R15	MÉDIA	DESVIO	ERRO
-16	37,6	37,7	37,7	37,5	37,5	37,6	0,1	0,1
-10	38,0	38,0	37,6	37,5	37,3	37,7	0,3	0,1
3	37,1	38,1	37,5	38,1	37,7	37,7	0,4	0,2
6	37,8	38,1	38,2	38,1	37,2	37,9	0,4	0,2
9	37,7	38,3	37,3	38,4	37,4	37,8	0,5	0,2
12	37,7	38,1	37,7	38,1	37,3	37,8	0,3	0,2
15	37,5	38,0	37,9	38,4	37,7	37,9	0,4	0,2
18	37,6	38,2	38,1	38,1	37,4	37,9	0,3	0,1
21	37,3	37,6	37,5	37,7	36,8	37,4	0,3	0,2
24	36,9	37,4	37,0	37,1	36,7	37,0	0,3	0,1
27	37,0	37,5	36,9	37,2	36,6	37,0	0,3	0,1
30	36,7	37,7	37,0	37,1	36,8	37,1	0,4	0,2
33	37,5	38,1	38,0	37,6	36,8	37,6	0,5	0,2
36	37,5	38,0	36,9	37,3	37,0	37,3	0,5	0,2
39	37,4	37,9	37,9	37,5	36,7	37,5	0,5	0,2
42	37,7	37,6	37,7	37,9	37,1	37,6	0,3	0,1

Apêndice C: dados protocolo 3

Temperatura colônica – protocolo 3:

TEMPO	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	MÉDIA	DESVIO
0	36,6	38,6			38,5	37,3	37,3	37,7	0,8
1	37,5	38,8	37,7	37,5	38,7	38,5	37,3	38,0	0,6
2	37,6	38,9	37,8	37,7	38,9	37,7	37,5	38,0	0,6
3	37,7	39,0	37,9	37,8	39,0	37,9	37,5	38,1	0,6
4	37,8	39,0	38,0	37,9	39,0	37,9	37,9	38,2	0,5
5	37,9	39,0	38,1	38,0	39,0	38,0	38,0	38,3	0,5
6	38,0	38,9		38,0	39,1	38,2	38,1	38,4	0,5
7	38,1	39,0	38,2	38,1	39,1	38,4	38,2	38,5	0,4
8	38,2	39,1	38,3	38,2	39,2	38,4	38,2	38,5	0,4
9	38,3	39,1	38,4	38,3	39,0	38,4	38,1	38,5	0,4
10	38,2	39,0	38,5	38,4	38,9	38,3	38,2	38,5	0,3
11	38,2	39,0	38,5	38,4	38,9	38,3	38,2	38,5	0,3
12	38,3	39,0	38,5	38,4	38,9	38,4	38,3	38,5	0,3
13	38,3	39,0	38,6	38,5	38,9	38,4	38,3	38,6	0,3
14	38,3	39,0	38,6	38,5	38,9	38,4	38,3	38,6	0,3
15	38,3	39,9	38,7	38,5	39,0	38,4	38,3	38,7	0,6
16	38,3	38,9	38,6	38,5	38,8	38,4	38,2	38,5	0,3
17	38,3	38,9	38,6	38,6	38,8	38,5	38,3	38,6	0,2
18	38,3	38,8	38,7	38,6	38,9	38,5	38,3	38,6	0,2
19	38,3	38,8	38,7	38,6	38,9	38,5	38,3	38,6	0,2
20	38,3	38,8	38,7	38,6	38,9	38,6	38,2	38,6	0,3
21	38,2	38,7	38,6	38,6	38,9	38,6	38,1	38,5	0,3
22	38,2	38,7	38,6	38,5	38,9	38,6	38,2	38,5	0,3
23	38,2	37,7	38,6	38,5	38,9	38,5	38,2	38,4	0,4
24	38,1	38,6	38,5	38,5	39,0	38,5	38,1	38,5	0,3
25	38,1	38,6	38,5	38,5	39,0	38,5	38,1	38,5	0,3
26	37,9	38,6	38,5	38,5	39,0	38,5	38,0	38,4	0,4
27	38,0	38,5	38,5	38,5	39,0	38,5	38,0	38,4	0,3
28	38,1	38,5	38,5	38,5	39,0	38,6	38,0	38,4	0,3
29	38,2	38,5	38,5	38,5	39,0	38,6	38,0	38,5	0,3
30	38,2	38,4	38,4	38,4	39,1	38,6	38,0	38,4	0,3
31	38,2	38,4	38,4	38,3	39,0	38,5	38,0	38,4	0,3
32	38,2	38,4	38,3	38,4	39,0	38,5	38,0	38,4	0,3
33	38,2	38,4	38,3	38,4	39,0	38,5	38,0	38,4	0,3
34	38,2	38,4	38,3	38,4	38,9	38,5	38,0	38,4	0,3
35	38,1	38,4	38,3	38,5	38,9	38,4	38,0	38,4	0,3
36	38,2	38,3	38,4	38,4	38,8	38,4	38,0	38,4	0,3
37	38,1	38,3	38,4	38,4	38,8	38,4	38,0	38,3	0,2
38	38,2	38,3	38,4	38,4	38,7	38,4	38,0	38,3	0,2

39	38,2	38,3	38,3	38,4	38,7	38,3	37,9	38,3	0,2
40	38,2	38,2	38,3	38,5	38,7	38,3	37,8	38,3	0,3
41	38,2	38,2	38,3	38,5	38,7	38,3	37,8	38,3	0,3
42	38,2	38,2	38,2	38,5	38,7	38,3	37,8	38,3	0,3
43	38,2	38,2	38,2	38,4	38,7	38,3	37,7	38,2	0,3
44	38,2	38,2	38,2	38,4	38,7	38,3	37,7	38,3	0,3
45	38,2	38,2	38,1	38,4	38,8	38,3	37,7	38,2	0,3
46	38,2	38,1	38,1	38,3	38,9	38,4	37,7	38,2	0,3
47	38,2	38,2	38,1	38,3	38,9	38,4	37,7	38,2	0,3
48	38,2	38,2	38,1	38,3	38,8	38,4	37,7	38,2	0,3
49	38,2	38,1	38,0	38,3	38,8	38,4	37,7	38,2	0,3
50	38,3	38,1	38,0	38,3	38,8	38,4	37,7	38,2	0,3
51	38,4	38,0	38,0	38,2	38,7	38,5	37,8	38,2	0,3
52	38,4	38,0	38,0	38,2	38,7	38,6	37,9	38,3	0,3
53	38,4	38,0	38,0	38,2	38,7	38,6	37,9	38,3	0,3
54	38,4	38,0	38,0	38,2	38,7	38,6	37,9	38,3	0,3
55	38,4	38,0	38,0	38,2	38,7	38,7	37,8	38,2	0,4
56	38,4	38,0	37,9	38,2	38,7	38,6	37,8	38,2	0,3
57	38,4	37,9	37,9	38,2	38,5	38,5	37,8	38,2	0,3
58	38,4	37,9	37,9	38,2	38,5	38,5	37,7	38,1	0,3
59	38,3	37,8	37,9	38,2	38,5	38,4	37,7	38,1	0,3
60	38,3	37,8	37,9	38,2	38,5	38,4	37,7	38,1	0,3
61	38,2	37,8	37,9	38,2	38,6	38,3	37,5	38,1	0,4
62	38,2	37,8	38,0	38,2	38,6	38,3	37,8	38,1	0,3
63	38,2	37,8	38,0	38,1	38,7	38,4	37,6	38,1	0,4
64	38,2	37,8	38,1	38,2	38,7	38,4	37,9	38,2	0,3
65	38,0	37,8	38,1	38,2	38,7	38,4	37,9	38,1	0,3

Temperatura intraperitoneal – protocolo 3:

TEMPO	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	MÉDIA	DESVIO
0	36,9	38,4	37,7	37,4	38,3	36,9	36,9	37,5	0,6
1	37,0	38,5	37,7	37,5	38,5	36,9	37,0	37,6	0,7
2	37,0	38,6	37,6	37,5	38,5	37,0	36,8	37,6	0,7
3	37,0	38,7	37,6	37,6	38,5	37,0	36,6	37,6	0,8
4	37,1	38,7	37,6	37,7	38,3	37,0	36,6	37,6	0,7
5	37,3	38,7	37,7	37,8	38,3	37,2	36,6	37,6	0,7
6	37,4	38,7		37,9	38,3	37,3	36,6	37,7	0,8
7	37,4	39,0	38,0	38,0	38,4	37,4	36,8	37,8	0,7
8	37,5	39,0	38,1	38,0	38,4	37,4	37,0	37,9	0,7
9	37,6	39,1	38,1	38,0	38,4	37,4	37,2	38,0	0,6
10	37,7	39,1	38,1	38,0	38,3	37,5	37,2	38,0	0,6
11	37,7	39,0	38,2	38,1	38,3	37,5	37,2	38,0	0,6

12	37,7	39,0	38,2	38,2	38,5	37,7	37,2	38,1	0,6
13	37,7	39,0	38,2	38,2	38,6	37,7	37,2	38,1	0,6
14	37,8	39,0	38,2	38,3	38,6	37,7	37,2	38,1	0,6
15	37,8	39,0	38,3	38,4	38,7	37,7	37,3	38,2	0,6
16	37,7	39,0	38,4	38,4	38,7	37,8	37,5	38,2	0,5
17	37,8	39,0	38,4	38,5	38,6	37,9	37,5	38,2	0,5
18	37,8	39,0	38,4	38,5	38,5	37,9	37,5	38,2	0,5
19	37,8	38,9	38,4	38,5	38,5	37,9	37,5	38,2	0,5
20	37,9	38,9	38,4	38,5	38,5	37,9	37,6	38,2	0,4
21	37,9	38,9	38,3	38,6	38,6	37,9	37,6	38,3	0,5
22	37,9	38,9	38,3	38,5	38,6	38,0	37,7	38,3	0,4
23	38,0	38,8	38,3	38,4	38,6	38,0	37,7	38,3	0,4
24	38,0	38,8	38,3	38,4	38,7	38,0	37,7	38,3	0,4
25	38,0	38,8	38,3	38,5	38,7	38,0	37,7	38,3	0,4
26	38,0	38,7	38,3	38,5	38,7	38,0	37,7	38,3	0,4
27	38,0	38,7	38,3	38,6	38,8	38,1	37,7	38,3	0,4
28	37,9	38,7	38,3	38,6	38,8	38,1	37,7	38,3	0,4
29	37,9	38,7	38,3	38,6	38,8	38,1	37,7	38,3	0,4
30	37,8	38,6	38,3	38,5	38,8	38,0	37,7	38,3	0,4
31	37,8	38,5	38,3	38,5	38,8	38,1	37,7	38,2	0,4
32	37,8	38,5	38,3	38,5	38,8	38,2	37,7	38,3	0,4
33	37,9	38,5	38,2	38,5	38,8	38,2	37,7	38,2	0,4
34	37,9	38,5	38,2	38,5	38,8	38,2	37,7	38,2	0,4
35	37,9	38,5	38,3	38,5	38,8	38,1	37,7	38,2	0,4
36	37,8	38,4	38,3	38,5	38,7	38,1	37,7	38,2	0,4
37	37,9	38,4	38,2	38,5	38,7	38,2	37,7	38,2	0,3
38	37,9	38,4	38,2	38,5	38,6	38,2	37,8	38,2	0,3
39	38,0	38,4	38,2	38,5	38,6	38,3	37,8	38,2	0,3
40	38,0	38,4	38,2	38,5	38,6	38,3	37,7	38,2	0,3
41	38,0	38,3	38,1	38,5	38,6	38,2	37,7	38,2	0,3
42	37,9	38,3	38,1	38,5	38,6	38,2	37,7	38,2	0,3
43	37,9	38,3	38,1	38,5	38,7	38,2	37,8	38,2	0,3
44	37,9	38,3	38,2	38,5	38,7	38,2	37,8	38,2	0,3
45	37,9	38,3	38,1	38,5	38,7	38,2	37,8	38,2	0,3
46	37,9	38,3	38,0	38,5	38,7	38,3	37,8	38,2	0,3
47	38,0	38,2	38,0	38,5	38,7	38,3	37,8	38,2	0,3
48	38,0	38,2	38,0	38,5	38,8	38,3	37,9	38,2	0,3
49	38,0	38,2	37,9	38,5	38,8	38,3	37,9	38,2	0,3
50	38,0	38,2	37,9	38,5	38,6	38,3	37,9	38,2	0,3
51	38,0	38,2	37,9	38,5	38,6	38,3	37,9	38,2	0,3
52	38,0	38,2	37,9	38,5	38,6	38,2	37,7	38,2	0,3
53	38,0	38,2	37,9	38,4	38,6	38,2	37,7	38,1	0,3
54	38,0	38,1	37,9	38,4	38,5	38,2	37,7	38,1	0,3
55	37,9	38,1	37,9	38,4	38,5	38,2	37,6	38,1	0,3

56	37,9	38,1	38,0	38,4	38,5	38,2	37,6	38,1	0,3
57	37,9	38,1	38,0	38,4	38,6	38,2	37,6	38,1	0,3
58	37,8	38,1	38,0	38,4	38,6	38,2	37,5	38,1	0,3
59	37,9	38,0	38,0	38,4	38,5	38,1	37,5	38,0	0,3
60	38,0	38,0	38,0	38,4	38,5	38,1	37,5	38,0	0,3
61	38,0	38,0	38,0	38,4	38,4	38,1	37,5	38,0	0,3
62	38,0	38,0	38,0	38,4	38,4	38,1	37,5	38,1	0,3
63	38,0	38,0	38,1	38,3	38,5	38,1	36,8	38,0	0,5
64	38,0	38,0	38,2	38,3	38,5	38,1	36,8	38,0	0,5
65	38,0	38,1	38,1	38,3	38,5	38,1	36,6	38,0	0,6

Apêndice D: massa úmida dos tecidos retirados no dia da eutanásia dos animais utilizados no protocolo 1

Massa corporal (g) no dia da eutanásia, descrição da massa úmida (g) dos tecidos, índice de adiposidade (%) e massa dos tecidos relativizada pela massa corporal (g).

	MC	TAMAR	FÍGADO	CORAÇÃO	GAST. D	SOL. D.	ADR. D.	IA.
GRUPO	378,6 ± 20,8	0,23 ± 0,05	11,22 ± 1,27	1,22 ± 0,11	2,10 ± 0,18	0,19 ± 0,01	0,03 ± 0,003	1,5 ± 0,5
MR	-	0,62 ± 0,15	29,69 ± 3,46	3,23 ± 0,35	5,55 ± 0,24	0,49 ± 0,05	0,07 ± 0,01	-

Dados apresentados como média ± desvio padrão. TAMAR: tecido adiposo marrom; GAST. D.: gastrocnêmio direito; SOL. D.: sóleo direito; ADR. D.: glândula adrenal direita; IA.: índice de adiposidade. MR.: massa relativizada. Os valores da massa dos tecidos relativizada pela massa corporal foram multiplicados por 1000.