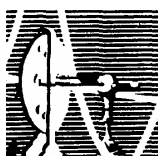


**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO
DE JANEIRO**

DANIELE LEÃO IGNACIO

**EFEITO DO TREINAMENTO FÍSICO DE NATAÇÃO
SOBRE O GANHO DE MASSA CORPORAL E
FUNÇÃO TIREÓIDEA DE RATAS
OVARIECTOMIZADAS**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO SUBMETIDA À
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO VISANDO
A OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM CIÊNCIAS
BIOLÓGICAS (FISIOLOGIA)**



**Universidade Federal do Rio de Janeiro
Centro de Ciências da Saúde
Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho
2008**

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

DANIELE LEÃO IGNACIO

EFEITO DO TREINAMENTO FÍSICO DE NATAÇÃO SOBRE O GANHO DE
MASSA CORPORAL E FUNÇÃO TIREÓIDEA DE RATAS OVARIECTOMIZADAS

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Fisiologia) do Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho da Universidade Federal do Rio de Janeiro/UFRJ visando à obtenção do grau de Mestre em Ciências Biológicas (Fisiologia).

Orientadora: Denise Pires de Carvalho

RIO DE JANEIRO

2008

FICHA CATALOGRÁFICA

Ignacio, Daniele Leão

Efeito do treinamento físico de nataação sobre o ganho de massa corporal e função tireóidea de ratas ovariectomizadas / Daniele Leão

Ignacio.- Rio de Janeiro, 2008.

xii, 89 f

Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas-Fisiologia)

Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, 2008.

Orientadora: Denise Pires de Carvalho

1. treinamento físico 2. desiodase 3. ovariectomia

I. Carvalho, Denise Pires (orientadora). II. Universidade Federal do Rio de Janeiro III. Efeito do treinamento físico sobre o ganho de massa corporal e função tireóidea de ratas ovariectomizadas.

Daniele Leão Ignacio

EFEITO DO TREINAMENTO FÍSICO DE NATAÇÃO SOBRE O GANHO DE
MASSA CORPORAL E FUNÇÃO TIREÓIDEA DE RATAS OVARIETOMIZADAS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO SUBMETIDA À UNIVERSIDADE FEDERAL DO
RIO DE JANEIRO VISANDO À OBTENÇÃO DO GRAU EM CIÊNCIAS
BIOLÓGICAS (FISIOLOGIA)

Prof / Dra Denise Pires de Carvalho

Prof / Dra Débora Souza Faffe – IBCCF/UFRJ

Prof / Dr. João Pedro Saar Werneck –IBCCF/UFRJ

Prof/ Dra. Patrícia Lisboa - UERJ

DEDICATÓRIA

A minha família.

Meus pais Luiz, Eulalia e Dalvina.

Minhas irmãs Marcia e Valéria.

Meus sobrinhos Daniel, Michele e Alice.

Amo vocês.

AGRADECIMENTOS

A minha família por acreditar e apoiar as minhas buscas.

A minha orientadora Denise Pires de Carvalho pela paciência e por todas as idéias brilhantes. Cada segundo com você é muito valioso.

Ao meu grande amigo Rodrigo. A distância não importa quando os corações estão juntos.

A professora e amiga Tamar Frankenfeld por ter colaborado de várias formas durante o curso desse trabalho. Sua presença sempre foi muito importante.

A professora Dóris Rosenthal pelos sinceros conselhos e por estar sempre contribuindo com seu grande conhecimento e experiência.

A professora Vânia Corrêa da Costa pela dedicação e por cuidar da revisão desta tese.

A amiga Andréia Ferreira por todas as ajudas e sugestões importantes e por transmitir calma nos momentos cruciais.

Aos colegas e amigos do laboratório. Tenho orgulho de estar entre vocês.

As amigas Alba Cenélia e Michelle Marassi que admiro pela sinceridade, seriedade e talento profissional. Além disso, agradeço os momentos de descontração e risadas.

Aos técnicos do laboratório e amigos Wagner e Valdo pelas importantes colaborações nos experimentos.

Aos amigos da minha vida: Wagner, Rodrigo, Fernando, Flavio, Daniele (Macarrão), Cíntia e Renata.

Aos importantes professores que marcaram minha vida contribuindo como exemplos para eu estar aqui hoje: Bianca Barboza, Paulo de Tarso (Paulão), Claudio Gonçalves e Marcos Soares(Marcão).

RESUMO

IGNACIO, Daniele Leão. **Efeito do treinamento físico de natação sobre o ganho de massa corporal e função tireóidea de ratas ovariectomizadas.** Rio de Janeiro, 2008. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas – Fisiologia) – Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.

A ovariectomia acelera o ganho de massa corporal, mas os possíveis mecanismos periféricos envolvidos no ganho de massa corporal são pouco conhecidos. O exercício físico e os hormônios tireóideos são conhecidos por alterar o balanço energético. Neste estudo, procuramos avaliar o efeito do treinamento físico de natação sobre o ganho de massa corporal e função tireóidea de ratas ovariectomizadas e falso-operadas. Ratas foram submetidas a 8 semanas de treinamento de natação com incremento progressivo da duração do protocolo de exercício (ao final do treinamento as ratas nadavam por 75 minutos em cada sessão, 5 dias por semana, nas últimas 4 semanas). Os resultados indicam maior ganho de massa corporal nas ratas ovariectomizadas comparadas às falso-operadas. O protocolo de treinamento não impediu o ganho de massa corporal secundário à ovariectomia. Entretanto, o protocolo de exercício reduziu a gordura subcutânea apesar do aumento da ingestão alimentar dos animais castrados. Não houve diferença significativa em relação ao T3, T4 e TSH totais séricos em resposta ao treinamento de intensidade moderada e à ovariectomia a longo prazo. Porém, o metabolismo periférico dos hormônios tireóideos foi alterado. Enquanto a atividade iodotironina desidrase tipo 1 (D1) na hipófise e tipo 2 (D2) no tecido adiposo marrom (TAM) aumentaram nos animais falso operados treinados, a ovariectomia bloqueou esta resposta. Além disso, a D2 foi significativamente menor nos grupos ovariectomizados, treinados ou não. Portanto, a ovariectomia a longo prazo não altera a função tireóidea e o sobrepeso não foi impedido pelo treinamento físico das ratas ovariectomizadas. É interessante notar que o treinamento físico regula positivamente a atividade D1 na hipófise e D2 no TAM, efeitos estes que dependem da função gonadal intacta. A atividade da D2 na hipófise é positivamente regulada pelos hormônios ovarianos, provavelmente em células que não correspondem aos tireotrofos, já que o TSH não sofreu alteração significativa nos animais ovariectomizados, apesar da atividade D2 diminuída.

ABSTRACT

IGNACIO, Daniele Leão. **Effect of swimming training on body weight gain and thyroid function of ovariectomized rats.** Rio de Janeiro, 2008. Dissertation (Máster of Sciences in Biology – Physiology) – Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.

Ovariectomy leads to a significant increase in body weight, but the possible peripheral mechanisms involved in weight gain are still unknown. Both exercise and thyroid hormones modulate energy balance. Here we aimed to study the effect of swimming training on body weight gain and thyroid function in ovariectomized or sham-operated rats. Rats were submitted to a period of 8-week training with progressive higher duration of exercise protocol (at the end the rats swam for 75 min per session, 5 days per week for the last 4 weeks). Our results show that ovariectomized gained more weight than sham-operated rats, and the type of training program did not prevent the weight gain that follows ovariectomy. However, the exercise protocol reduced subcutaneous fat pads despite the higher caloric intake of ovariectomized rats. There were no differences in serum total T3, T4 and TSH in response to a moderate intensity training program and long-term ovariectomy. The peripheral metabolism of thyroid hormones was affected. While pituitary iodotironine type 1 deiodinase (D1) and brown adipose tissue (BAT) type 2 deiodinase (D2) activities increased in sham operated trained rats, ovariectomy blunted this response to exercise. Moreover, D2 was significantly lower in ovariectomized groups trained or not. In conclusion, long-term ovariectomy does not lead to thyroid dysfunction and the establishment of overweight is not impaired by physical training of ovariectomized rats. Interestingly, physical training positively regulates pituitary D1 and BAT D2 activities, which depend on intact gonadal function. Pituitary D2 activity is positively regulated by ovarian hormones probably in other cells than thyrotrophs, since serum thyrotrophic hormone is not changed in ovariectomized animals notwithstanding lower pituitary D2 activities.

LISTA DE SIGLAS

ACSM	Colégio Americano de Medicina Desportiva
AMPc	monofosfato cíclico de adenosina
ArKO	knockout para aromatase
ATP	trifosfato de adenosina
D1	iodotironina desiodase do tipo1
D2	iodotironina desiodase do tipo2
D3	iodotironina desiodase do tipo 3
E1	estrone
E2	17- β estradiol
E3	estriol
Eb	benzoato de estradiol
ER	receptor de estrogênio
ERE	elemento responsivo ao estrogênio
ER- α	receptor alfa de estrogênio
ER- β	receptor beta de estrogênio
MAPK	proteína cinase ativada por mitógenos
ERR	receptor relacionado ao estrogênio
ERR- α	receptor alfa relacionado ao estrogênio
ERR- β	receptor beta relacionado ao estrogênio
FSH	hormônio folículo estimulante
HDL	lipoproteína de alta densidade
HT	hormônios tireóideos
LH	hormônio luteinizante
IL-6	interleucina 6
KO	knockout
MC	massa corporal
NEAT	termogênese não relacionada à atividade física
NIS	co-transportador sódio-iodeto
p38/MAPK	proteína cinase p 38 ativada por mitógenos
PI3K/AKT	fosfatidil inositol 3 cinase / proteína cinase tipo B
PGC 1- α	coativadores 1 alfa do receptor gama ativado pelo proliferador de peroxissoma (PPAR γ)
PGC-1 β	coativadores 1 beta do receptor gama ativado pelo proliferador de peroxissoma (PPAR γ)
PLC/PKC	fosfolipase C / proteína cinase tipo C
PTU	6-n-propil-2-thiouracil

RIE	radioimunoensaio
rT ₃	triiodotironina reversa
TAM	tecido adiposo marrom
TPO	tireoperoxidase
TR	receptor tireóideo
TRE	elemento responsivo ao hormônio tireóideo
TMB	taxa metabólica basal
TNF- α	fator alfa de necrose tumoral
TRH	hormônio liberador de tireotrofina
TSH	hormônio tireoestimulante
TSHR	receptor de tireotrofina
T ₃	triiodotironina
T ₄	tiroxina
VO ₂ max	volume máximo de oxigênio
UCP1	proteína desaclopadora mitocondrial 1
UCP2	proteína desaclopadora mitocondrial 2
UCP3	proteína desaclopadora mitocondrial 3

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	13
1- ESTERÓIDES SEXUAIS FEMININOS	13
1.1- MODELOS DE SOBREPESO SECUNDÁRIOS À DEFICIÊNCIA DE ESTROGÊNIO OU DA SUA AÇÃO	14
1.1.2 – DEFICIÊNCIA DE ESTROGÊNIO E CONTROLE DA MASSA CORPORAL	14
1.1.3 – DEFICIÊNCIA DE AROMATASE	15
1.1.4 – ANIMAIS COM DELEÇÃO DOS RECEPTORES DE ESTROGÊNIO	17
1.1.5- EXERCÍCIO FÍSICO E CONTROLE DA MASSA CORPORAL	21
1.1.6- TIREÓIDE EXERCÍCIO FÍSICO	26
1.1.7- TIREÓIDE E ESTROGÊNIO	35
1.1.8- TIREÓIDE E CASTRAÇÃO	37
1.1.9- EXERCÍCIO FÍSICO E CASTRAÇÃO	40
1.1.10- OBJETIVOS GERAIS	43
1.1.11– OBJETIVOS ESPECÍFICOS	43
2- MATERIAIS E MÉTODOS	44
2.1 – ANIMAIS	44
2.2 – CITOLOGIA VAGINAL	44
2.3– OVARIECTOMIA	45
2.4 – CONTROLE DA MASSA CORPORAL	45

2.5- TREINAMENTO	46
2.6 – SACRIFÍCIO DOS ANIMAIS	47
2.7- COLETA DE SANGUE E EXCISÃO DOS TECIDOS	47
2.8- RADIOIMUNOENSAIO	48
2.8.1- tsh	48
2.8.2- T3 e T4 TOTAIS	49
2.9- ATIVIDADE DAS IODOTIRONINAS DESIODASES TIPO I E TIPO II	49
2.9.1- PROCESSAMENTO DOS TECIDOS	50
2.9.2- PURIFICAÇÃO DO RT ₃ -I ¹²⁵ e T ₄ -I ¹²⁵	50
2.9.3- ENSAIO DE ATIVIDADE d1	51
2.9.4- ENSAIO DE ATIVIDADE d2	52
2.10-COMPOSIÇÃO CORPORAL PELO MÉTODO DA CARÇAÇA	53
2.10.1- GORDURA CORPORAL	54
2.10.2- PROTEÍNA CORPORAL	55
2.11 – ANÁLISE ESTATÍSTICA	55
3- RESULTADOS	56
3.1- MASSA CORPORAL, INGESTÃO E EFICIÊNCIA ALIMENTAR	56
3.2- COMPOSIÇÃO CORPORAL	58
3.2.1- CARÇAÇA	58
3.3.1- COMPARTIMENTOS DE GORDURA	60
3.3.- PESO DOS TECIDOS	62
3.3.1- PESO DO ÚTERO	62

3.3.2- PESO DA TIREÓIDE	63
3.3.3- PESO DA HIPÓFISE	65
3.3.4- PESO DO TAM	66
3.4- CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE T3, T4 E TSH	67
3.5- ATIVIDADES DAS ENZIMAS DESIODASES TIPO 1 (D1) E TIPO 2 (D2)	69
4- DISCUSSÃO	73
5- CONCLUSÕES	80
6- REFERÊNCIAS	81

INTRODUÇÃO

1- ESTERÓIDES SEXUAIS FEMININOS

Estrogênios é um grupo de hormônios esteróides de 18 carbonos secretados principalmente pelo ovário e, em menor quantidade, pelas adrenais. Em homens, quantidades menores ainda são secretadas pelos testículos e adrenais. O termo estrogênio engloba três hormônios esteróides semelhantes estruturalmente: 17- β estradiol (E2), estrona (E1) e estriol (E3). Desses, o 17- β estradiol (E2) é o principal esteróide em humanos que possui propriedades estrogênicas (Kendall e Eston, 2002).

Os hormônios gonadais regulam a secreção do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) pelo hipotálamo através de um mecanismo de *feedback* negativo. Em resposta ao GnRH a hipófise anterior secreta o hormônio folículo estimulante (FSH) e o hormônio luteinizante (LH). O LH é responsável por aumentar a captação de colesterol, estimular as células intersticiais da teca das gônadas femininas a secretar androstenediona e também age nas células granulosas femininas. A função do FSH é regular a produção de estradiol nas células da granulosa e o crescimento folicular. Os hormônios gonadais e peptídeos produzidos no ovário, como a inibina e a ativina também regulam a secreção de FSH e LH (Bulun e Adashi, 2003).

1.1- MODELOS DE SOBREPESO SECUNDÁRIOS À DEFICIÊNCIA DE ESTROGÊNIO OU DA SUA AÇÃO

1.1.2 – DEFICIÊNCIA DE ESTROGÊNIO E CONTROLE DA MASSA CORPORAL

Desde a década de 80 se sabe que a ovariectomia em ratas acelera o ganho de massa corporal, mais especificamente de tecido adiposo (Hervey e Hervey, 1981). No entanto, no estudo de Richard *et al* (1987), ratas ovariectomizadas apresentaram redução significativa de E2 plasmático e aumento de massa corporal que não correspondeu à massa gorda, mas sim ao conteúdo de proteínas. Assim, a mudança na composição corporal de ratas ovariectomizadas pode ser devida ao ganho de massa gorda ou de proteínas. Esses animais, além do aumento de massa corporal, apresentaram também maior ingestão alimentar, alterações que foram impedidas pela reposição com E2.

Ratas ovariectomizadas tratadas com estradiol apresentam massa corporal menor que os animais controles (Kimura *et al*, 2002; Meli *et al*, 2004; Marassi *et al*, 2007). Meli *et al* (2004) sugeriram um efeito lipolítico do estrogênio, além da inibição direta no hipotálamo da ação do neuropeptídeo Y e conseqüentemente da ingestão alimentar.

Logo, a ovariectomia é um modelo usado para se estudar os mecanismos pelos quais a deficiência de estrogênio muda a composição corporal (Meli *et al*, 2004) e a ingestão alimentar, causando maior ganho de massa corporal.

O papel do estrogênio na regulação da gordura corporal foi confirmado através de estudos mostrando que camundongos deficientes do receptor α de estrogênio (ER- α) ou da aromatase, enzima responsável pela biossíntese de estrogênio, apresentam aumento do tecido adiposo branco (Heine *et al*, 2000; Jones *et al*, 2000). Entretanto, os mecanismos pelos quais o E2 exerce influência sobre o comportamento alimentar e a regulação da massa corporal não são claros. A deficiência de estrogênio pode estar relacionada à diminuição de receptores de leptina no hipotálamo, o que causaria diminuição da saciedade (Kimura *et al*, 2002). Com relação ao ganho de massa corporal, acredita-se que possa estar relacionado a mudanças no comportamento alimentar e/ou à diminuição do gasto energético (Richard, 1986).

1.1.3 – DEFICIÊNCIA DE AROMATASE

A etapa final da biossíntese de estrogênio é catalisada por uma enzima microssomal que faz parte da superfamília do citocromo P450, chamada citocromo aromatase P450 (P450arom, produto do gene Cyp19). A superfamília do gene P450 contém 3000 membros distribuídos em 350 famílias, sendo o citocromo P450arom o único membro da família 19 (Thompson e Siiteri, 1974). Essa hemoproteína é responsável por ligar o substrato C19 dos esteróides androgênicos (androstenediona e testosterona) e catalisar reações que levam à formação do anel fenólico que caracteriza os estrogênios (Jones *et al*, 2007). Figura 1.

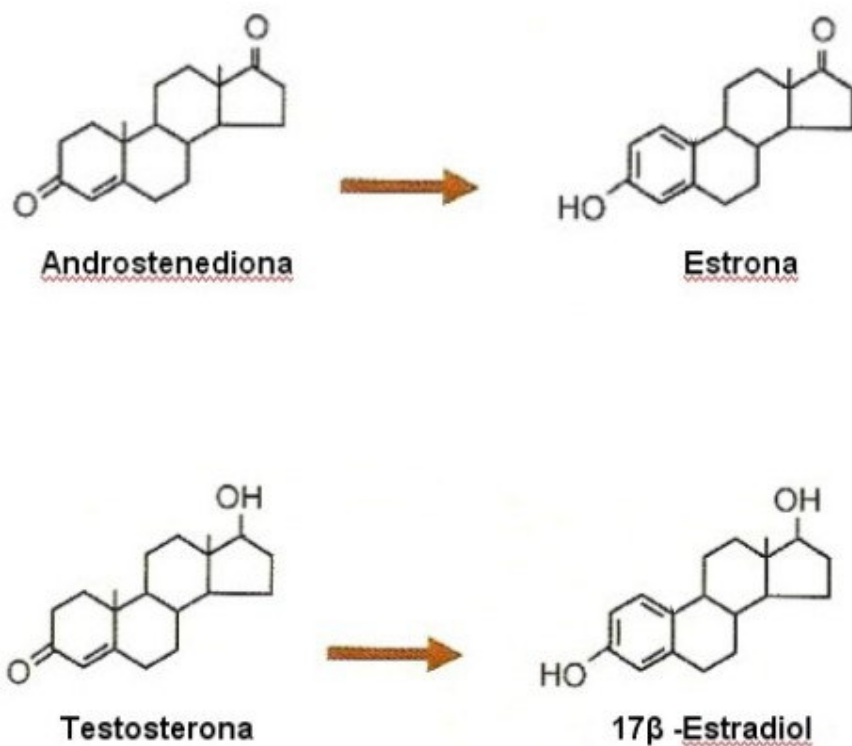


Figura 1- Conversão de androgênios a estrogênios pela aromatase. Adaptado de Spritzer, PM. In: Aires 2008.

Camundongos com deleção da aromatase (ArKO) nos possibilitam entender os múltiplos papéis do estrogênio no desenvolvimento e manutenção dos sistemas fisiológicos em mamíferos. Nos animais com destruição do gene Cyp19, toda a produção de estrogênio é bloqueada, havendo alterações endócrinas severas no sistema reprodutor, acúmulo de tecido adiposo e alterações em nível esquelético, tais como perda do volume e espessura do osso trabecular e osteopenia. Esse modelo difere daquele em que a responsividade ao estrogênio é bloqueada, já que o modelo de deficiência de aromatase não permite a síntese do próprio estrogênio (Simpson *et al*, 2002).

A deficiência de estrogênio em camundongos, resultante da perda da atividade da aromatase, gera efeitos graves no sistema reprodutor das fêmeas. Com 3 meses de idade, o útero se encontra pouco desenvolvido, pesando menos da metade do peso do útero de camundongos normais. Os ovários se desenvolvem, porém não concluem a maturação por estarem em um ambiente sem estrogênio. Embora pareça que o estrogênio tenha um papel crucial no crescimento do ovário, outros parâmetros são também alterados neste modelo, pois as concentrações séricas de testosterona estão aproximadamente 10 vezes maiores nos animais ArKO comparados às fêmeas selvagens. Hormônio luteinizante (LH) e hormônio folículo-estimulante (FSH) também estão aumentados em até 10 e 4 vezes, respectivamente (Fisher *et al*, 1998).

Um aumento de tecido adiposo levou ao aumento da massa corporal em camundongos fêmeas ArKO; houve também alterações no perfil lipídico, como hipercolesterolemia, aumento de triglicerídeos e HDL, além de aumento de gordura intra-abdominal e diminuição de massa magra (Jones *et al*, 2000).

1.1.4- ANIMAIS COM DELEÇÃO DOS RECEPTORES DE ESTROGÊNIO

As respostas fisiológicas ao estrogênio são mediadas por, pelo menos, dois tipos de receptores de estrogênio (ERs), ER α e ER β . Os ERs são membros de uma ampla família de receptores hormonais nucleares

que são estimulados pelos ligantes, recrutando fatores de transcrição nucleares (Mangelsdorf *et al*, 1995).

A distribuição e o padrão de expressão dos receptores indicam uma ampla distribuição do ER α , enquanto o ER β possui um padrão de distribuição tecidual mais limitado, com alta expressão no ovário, próstata, epidídimo, pulmão e hipotálamo. As respostas fisiológicas exatas atribuídas a cada receptor, na sua maioria, são desconhecidas (Kuiper *et al*, 1997).

Camundongos KO para os ERs são modelos interessantes para o estudo dos mecanismos reguladores do metabolismo e da composição corporal. Camundongos com deleções do ER α têm aumento na massa de tecido adiposo branco, bem como resistência à insulina e diminuição da tolerância à glicose, em ambos os sexos (Heine *et al*, 2000).

Estudos recentes mostram que camundongos que tiveram o receptor α de estrogênio silenciado especificamente no núcleo ventromedial do hipotálamo desenvolveram diversas características de síndrome metabólica, tais como: ganho de peso, aumento da adiposidade visceral, hiperfagia, hiperglicemia e gasto energético diminuído. Isto indica um importante papel do ER α expresso no núcleo ventromedial do hipotálamo na manutenção do metabolismo e da massa corporal normal das fêmeas (Musatov *et al*, 2007).

Além dos receptores nucleares clássicos (ERs), há crescentes evidências de que o estrogênio assim como outros esteróides possa modular funções celulares através de ações não genômicas. Em diversos tipos celulares os estrógenos podem rapidamente disparar mecanismos de

sinalização que promovem estímulo ao fluxo iônico, produção de AMPc, ativação de fosfolipase C e geração de inositol fosfato. Várias vias de sinalização são ativadas pela ligação do estrogênio ao seu receptor de membrana. Esses efeitos rápidos podem ser classificados em quatro principais cascatas de sinalização (ERK/MAPK, p38/MAPK, PI3K/AKT, PLC/PKC) (Levin, 2005).

Outro estudo mostrou que o receptor nuclear órfão (ERR α) que pertence à subfamília dos receptores relacionados ao receptor de estrogênio, tem função ligada à sinalização de estrogênio, à formação óssea e ao metabolismo oxidativo. Evidências recentes mostram o papel do ERR α no metabolismo oxidativo e aumento da sua expressão em tecidos com alta capacidade oxidativa em situações fisiológicas de aumento na demanda energética, como por exemplo durante exposição ao frio, jejum e exercício físico. Em níveis fisiológicos, o ERR α é essencial para a sobrevivência em situações de aumento na demanda energética. A atividade diminuída do ERR α compromete a função mitocondrial e reduz a capacidade de gerar energia, assim há redução da capacidade física e da sobrevivência em situações de estresse metabólico (Villena *et al*, 2007).

Segundo Ichida *et al* (2002), o ERR α está predominantemente expresso em tecidos ricos em mitocôndrias, como o tecido adiposo marrom e miócitos cardíacos e exerce papel importante na regulação da expressão de genes envolvidos na biogênese mitocondrial, fosforilação oxidativa e β -oxidação de ácidos graxos.

ERR α não é um receptor constitutivamente ativo e nenhum ligante lipofílico foi identificado para esse receptor. Porém, os coativadores 1 α e 1 β (PGC-1 α e PGC-1 β) do receptor γ ativado pelo proliferador de peroxissoma foram identificados como potentes proteínas ligadoras para a família do ERR, sendo que PGC-1 β é considerado como um coativador mais específico e é a proteína ligadora que pode regular a transcrição gênica mediada pelo ERR (Eudy, 1998).

Essas proteínas ativam os receptores nucleares ligando-se a eles diretamente de forma similar aos ligantes lipofílicos clássicos (Kamei *et al*, 2003). Neste estudo Kamei *et al* mostraram que PGC-1 β é um regulador da transcrição mediada por ERR α , agindo no controle do gasto energético, pois camundongos transgênicos com expressão aumentada de PGC-1 β tiveram aumento do gasto energético, menos tecido adiposo branco e ganho de massa corporal menor que os camundongos controle, apesar do aumento da ingestão. Já o PGC-1 α é capaz de ativar uma série de receptores nucleares semelhantes aos dos estrogênios, funcionando como agonista destes receptores. Por ativar esses receptores, PGC-1 α , tem papel importante na adaptação a mudanças rápidas de temperatura.

Por outro lado, o estudo de Luo *et al* (2003) mostraram que camundongos com deleção no ERR α apresentavam resistência ao ganho de massa corporal e reduzida massa de gordura visceral quando comparados com os animais selvagens, indicando que o ERR α pode participar do desenvolvimento do tecido adiposo branco.

1.1.5- EXERCÍCIO FÍSICO E CONTROLE DA MASSA CORPORAL

O estudo do controle de massa corporal está essencialmente ligado à regulação do balanço energético, que depende de dois componentes básicos: a energia consumida e a energia gasta. Quando a energia consumida é equivalente a que se gasta, a massa corporal permanece constante (James, 1992). Entretanto, o ganho de massa corporal, em adultos saudáveis, ocorre quando a energia consumida excede persistentemente o gasto energético (Levine *et al*, 1999).

Assim, desequilíbrios energéticos que resultam em balanços energéticos positivos podem levar ao ganho de massa corporal e obesidade. A alta prevalência de obesidade e a sua associação com diabetes, hipertensão, hiperlipidemia e doenças cardiovasculares torna a obesidade um grave problema de saúde pública (James, 1992). A prevenção e/ou o tratamento da obesidade requer a redução do consumo alimentar e/ou o aumento do gasto energético (Tou e Wade, 2002).

O gasto energético diário total é composto pela taxa metabólica basal (TMB), termogênese pós-prandial e termogênese induzida pela atividade física. Esta última se subdivide na termogênese que acompanha o exercício físico e na termogênese que acompanha as atividades da vida diária ou atividade física não relacionada ao exercício (do inglês, *non exercise activity termogenesis*, NEAT). TMB é o mínimo de energia que um indivíduo necessita para manter as funções vitais do organismo em estado de repouso pós-absortivo, em situação de termoneutralidade. Termogênese pós-prandial é o aumento do gasto energético relacionado

com a digestão, absorção e estoque de alimentos (Jequier e Felber, 1987).

Apesar de corresponderem a maior parte do gasto energético diário total, a TMB e a termogênese pós-prandial não se correlacionam com alterações na massa corporal, ao contrário da atividade física diária (Levine *et al*, 1999).

A atividade física é o componente do gasto energético total mais variável e o mais fácil de ser alterado. Logo, o aumento da atividade física é freqüentemente prescrito para quem deseja perder massa corporal adiposa. Entretanto, é difícil saber se a perda de massa corporal é influenciada somente pelo exercício ou se outros fatores estão envolvidos, tais como: genéticos, hormonais, interações genético-ambientais, fatores sociais, biológicos e psicológicos (Sallis e Hovell, 1990).

Entende-se por atividade física qualquer movimento voluntário produzido pelos músculos esqueléticos que resulta em aumento do gasto energético (Levine *et al*, 1999). Para Sallis e Hovell (1990), atividade física é a energia que excede aquela que se gasta na termogênese pós-prandial e para manter a TMB.

Exercício físico, por sua vez, é definido por qualquer atividade física planejada, estruturada e repetitiva com o intuito de melhorar ou manter um ou mais componentes da aptidão física ou do rendimento (American College of Sports Medicine, 2003).

O exercício físico é descrito de acordo com as respostas metabólicas geradas por ele. Comparando respostas metabólicas durante

uma sessão específica de exercício com a taxa metabólica de repouso, que é a energia gasta em repouso completo em qualquer hora do dia, ou com sua resposta máxima, podemos estimar tanto a intensidade absoluta quanto a intensidade relativa de uma sessão de exercício. Sessões de exercícios são prescritas em termos do consumo máximo de oxigênio (VO_2 máx), como múltiplos da taxa metabólica de repouso, ou como percentual do VO_2 máx. Determinar a resposta metabólica do exercício também nos permite estimar o custo energético (calórico) do mesmo (Brooks *et al*, 2005).

O consumo máximo de oxigênio é aceito como uma medida normativa da aptidão cardiorrespiratória e é proporcional à intensidade do exercício. O VO_2 máx (l/min) é o produto do débito cardíaco máximo (l/min) pela diferença arteriovenosa de oxigênio (ml de O_2 /l) (American College of Sports Medicine, 2003). O nível máximo de consumo de oxigênio alcançado é representado pelo VO_2 máx e a clássica definição de VO_2 máx é o ponto em que não há mais aumento no consumo de oxigênio mesmo com incrementos na intensidade do exercício (Brooks *et al*, 2005).

A participação regular em uma atividade física de intensidade moderada está associada a benefícios para a saúde. O maior aprimoramento na captação máxima de oxigênio (VO_2 máx) ocorre quando o exercício envolve o uso de grandes grupos musculares por períodos prolongados em atividades de natureza rítmica e aeróbia, por exemplo, caminhada, corrida, natação, ciclismo, remo, etc. (American College of Sports Medicine, 2003).

É recomendado para indivíduos com sobrepeso ou obesos o mínimo de 150 minutos de atividade física moderada por semana. Esse nível de atividade física causa um impacto positivo na saúde de adultos que estão acima do peso. Entretanto, para redução ponderal a longo prazo, o recomendado é aumentar a quantidade de exercício para 200-300 minutos ou um déficit de 2000 kcal por semana (American College of Sports Medicine, 2003).

Segundo Katzeff e Selgrad (1991), o exercício físico crônico aeróbico que prioriza o metabolismo mitocondrial e que expõe o animal ou o indivíduo repetitivamente ao estresse agudo do exercício é recomendado como tratamento para obesidade devido a sua capacidade de, simultaneamente, manter a massa muscular e diminuir a massa de gordura. Para ser eficiente, o programa de exercícios deve aumentar a demanda energética enquanto a ingestão calórica é mantida ou reduzida.

Porém, exercícios aeróbicos extenuantes, como maratona, podem causar além da diminuição do tecido adiposo, diminuição da massa muscular (Knechtle e Bircher, 2005).

O custo energético da natação foi avaliado por McArdle (1967). (Figura 2). Nas 4 situações em que pesos adicionais foram aliados a cauda dos animais, a média do consumo de oxigênio dos animais que tiveram dificuldade em nadar esteve abaixo dos animais que nadaram sem carga. O consumo de oxigênio de repouso foi de 23,36 ml/kg/min. Os animais que nadaram sem carga alcançaram uma média de consumo de oxigênio de 62,60 ml/kg/min (McArdle, 1967), conforme Figura 2.

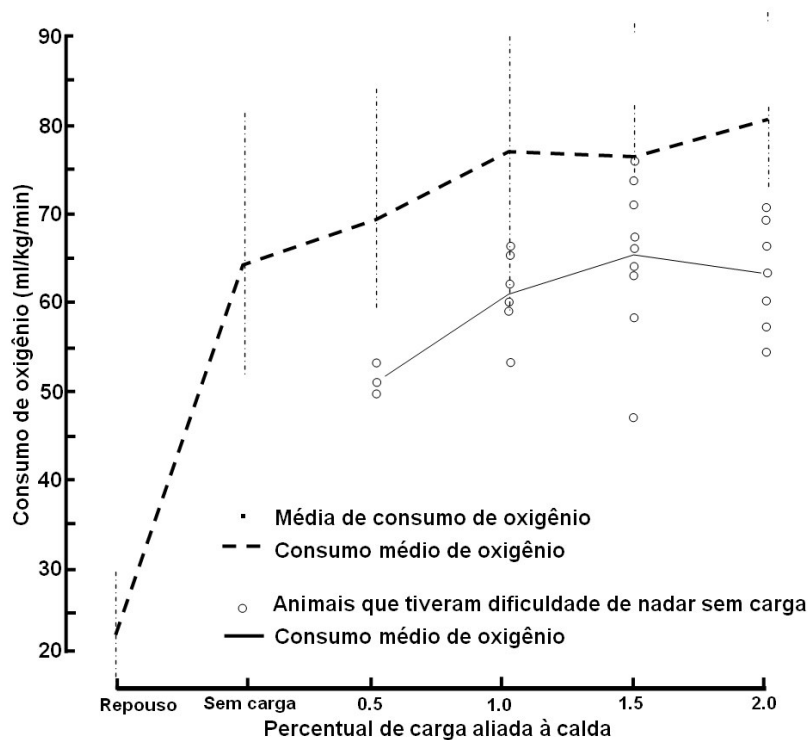


Figura 2- Efeito da carga sobre o consumo de oxigênio. Adaptado de McArdle (1967).

A regulação da atividade física diária não é completamente entendida principalmente por ser afetada por uma série de componentes regulatórios (Figura 3), entretanto é bem aceito que a redução da atividade física que está associada ao estilo de vida sedentário contribui para o ganho de massa corporal e obesidade (Tou e Wade, 2002).

Um estudo com ratos Zucker obesos (340-400g) mostrou que estes animais, quando submetidos ao exercício físico em esteira rolante, suportavam correr numa velocidade que era apenas a metade da velocidade que alcançavam seus pares selvagens não obesos (175-200g), indicando que a capacidade física diminuída pode ser secundária ao aumento de massa corporal, porém isto ainda é controverso (Ardevol *et al*, 1998).

Assim, de acordo com Tou e Wade (2002), a atividade locomotora diminuída seria uma resposta ao ganho de massa corporal, o que eventualmente contribuiria para aumentar ainda mais esse ganho.

Não há estudos avaliando mudanças nos níveis de atividade física durante o ganho de massa corporal gradual, mas existem estudos mostrando que, em condições de restrição alimentar, os ratos ficam hiperativos e apresentam atividade física aumentada em proporção inversa ao decréscimo no peso corporal (Moskowitz, 1959; Collier, 1971).

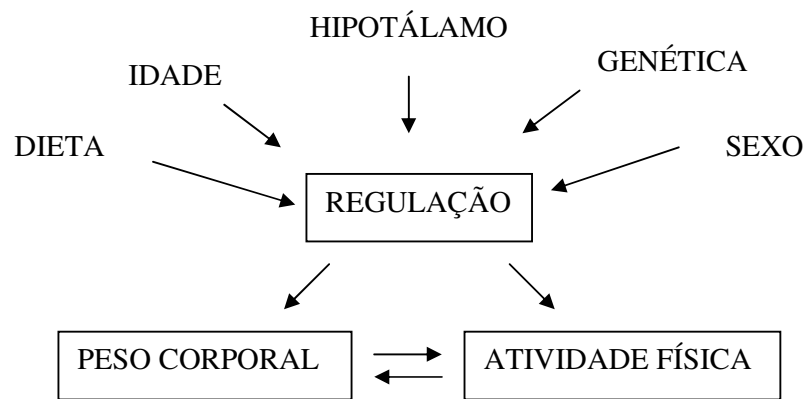


Fig. 3 – Componentes regulatórios que afetam o nível de atividade física. Adaptado de Tou e Wade (2002).

1.1.6- TIREÓIDE E EXERCÍCIO FÍSICO

Os hormônios tireóideos (HTs) têm um papel fundamental na diferenciação e no crescimento dos tecidos, bem como no metabolismo energético. Eles são necessários para o funcionamento normal de quase todos os tecidos, com importantes efeitos sobre o consumo de oxigênio e sobre a taxa metabólica basal (Oppenheimer *et al*, 1987).

A síntese e a secreção dos hormônios tireóideos são reguladas por um sistema de retroalimentação que envolve o hipotálamo, a hipófise e a glândula tireóide (Shupnik *et al*, 1989). No núcleo paraventricular do hipotálamo é sintetizado o hormônio liberador de tireotrofina (TRH, do inglês, *thyrotropin releasing hormone*); ele é transportado por axônios para a eminência média e depois para a hipófise anterior, via plexo capilar portal, onde se liga a receptores localizados nos tireotrofos, uma subpopulação de células adenohipofisárias que secreta tireotrofina (TSH, do inglês, *thyroid stimulating hormone*). O TSH é o principal regulador da glândula tireóide e estimula a síntese e secreção dos hormônios tireóideos, tiroxina (T_4) e triiodotironina (T_3). Ambos, TRH e TSH, são regulados negativamente pelos hormônios tireóideos, principalmente T_3 , gerado localmente a partir do T_4 . Além disso, a somatostatina e a dopamina, secretadas pelo hipotálamo, podem regular negativamente a secreção de TSH (Yen, 2001).

O TSH é o regulador primário da síntese e secreção dos HTs. Ele também desempenha um papel importante no crescimento e desenvolvimento da glândula tireóide. A ligação do TSH ao seu receptor leva a um aumento nos níveis intracelulares de AMP_C e conseqüente estimulação de vias relacionadas à proteína cinase A. Sabe-se que o aumento de cálcio citoplasmático também ocorre a partir da ativação do receptor de TSH (TSHR), via ativação da proteína Gq. Vários genes expressos na tireóide, como o do co-transportador Na^+/I^- (NIS), o da tireoglobulina, e o da tireoperoxidase (TPO) são estimulados pelo TSH e viabilizam a síntese dos HTs (Yen, 2001).

A maior parte da secreção de hormônio tireóideo pela tireóide ocorre na forma de T_4 (Yen, 2001). Em ratos, cerca de 60% da produção de T_3 ocorre em tecidos extratireóides; já em humanos, a produção de T_3 em tecidos extratireóides é ainda maior, em torno de 80%. A desiodação do pró-hormônio T_4 , assim como a de outras iodotironinas é catalisada pelas enzimas iodotironinas desiodases (Bianco *et al*, 2002). A concentração sanguínea de T_4 é 40 vezes maior que a de T_3 , estando aproximadamente 0,03% do T_4 e 0,3% do T_3 plasmático na forma livre e o restante ligado a proteínas carreadoras. É a porção livre que interage com a célula alvo e promove as respostas biológicas (Yen, 2001).

As enzimas iodotironinas desiodases são selenoproteínas que catalisam a monodesiodação das iodotironinas, regulando a disponibilidade do T_3 , o hormônio tireóideo metabolicamente ativo. As isoformas iodotironinas desiodases conhecidas até o momento são as do tipo 1 (D1), do tipo 2 (D2) e do tipo 3 (D3) (Bianco *et al*, 2002).

A enzima desiodase tipo 1 (D1) através da 5'-desiodação no anel externo da molécula de T_4 é capaz de produzir a maior parte de T_3 para a circulação e, através de uma desiodação no anel interno da molécula de T_4 , promove a sua inativação, formando a molécula de rT_3 , uma iodotironina sem atividade biológica. A D1 é uma proteína integral de membrana, expressa em vários tecidos como fígado, rins, tireóide e hipófise e é inibida pelo 6-n-propil-2-thiouracil (PTU), (Bianco *et al*, 2002). A D1 é a única selenodesiodase que age tanto no anel fenólico (externo) quanto no tirosílico (interno). É bem descrito o aumento na atividade e/ou expressão de RNAm da D1 induzida por hormônio

tireóideo em ratos, camundongos e humanos. Os efeitos transcrpcionais positivos são mediados por uma região no DNA chamada elemento responsivo a hormônio tireóideo (TRE), onde existe um sítio para ligação dos receptores dos HTs (Maia *et al*, 1995; Bianco *et al*, 2002).

Dependendo do tecido, outros hormônios são capazes de alterar a síntese e/ou atividade da D1 como os glicocorticóides, estrogênio, testosterona, GH e TSH. Fatores nutricionais também são importantes na modulação da atividade dessa enzima. O jejum induz diminuição na expressão de RNAm para D1 e como a D1 possui selênio em sua composição, uma deficiência desse mineral leva à diminuição de sua atividade no fígado, músculo esquelético e coração (Bianco *et al*, 2002).

A D1 produz a maioria do T_3 circulante sob condições metabólicas normais e sua expressão é induzida por hormônio tireóideo e por AMPc nos tireócitos (Köhrle, 1999). Muitos fatores regulam a síntese e a atividade da D1, porém os hormônios tireóideos são os reguladores mais potentes. Aumentos na atividade e/ou RNAm da D1 induzidos por hormônio tireóideos são descritos em ratos, camundongos e em humanos (Berry *et al*, 1991). Apesar da D1 hepática ser a principal responsável pela geração de T_3 para a circulação (Köhrle, 1996), a D1 tireóidea torna-se necessária para a geração de T_3 para a circulação em situações de deficiência de iodo e/ou selênio e em condições de hipotireoidismo, quando o TSH elevado estimula a D1 tireóidea via AMPc ou sob condições em que a D1 hepática está diminuída (Oertel *et al*, 1993).

A iodotironina desiodase tipo 2 (D2) é uma selenodesiodase de anel externo somente, promovendo a conversão de T_4 a T_3 , rT_3 a $3,3'$ - T_2

e de T_3 a $3,5-T_2$ (Bianco e Larsen, 2005). A D2 é expressa no tecido adiposo marrom (TAM) e em outros tecidos tais como a hipófise e o cérebro de ratos (Berry *et al*, 1991). No TAM, a D2 é estimulada pelo sistema nervoso simpático e sua ativação leva ao aumento intracelular de T_3 (Himms-Hagen, 1984; Silva e Larsen, 1983), esse é um dos mecanismos pelos quais os hormônios tireóideos aumentam o consumo de oxigênio e a termogênese em roedores. O TAM é responsável pelos maiores aumentos na produção de calor em roedores (Sullo *et al*, 2003).

A enzima desidase tipo 3 é a terceira isoforma envolvida na desidatação dos HTs. Age principalmente como inativadora do T_4 e T_3 , fazendo a desidatação apenas do anel interno da molécula. Assim, cataliza, por exemplo, a conversão de T_4 a rT_3 , T_3 a $3,3'-T_2$, os quais são biologicamente inativos. Presente predominantemente na pele, cérebro e placenta, também pode ser encontrada em músculo esquelético, fígado e intestino de ratos neonatos (Bianco *et al*, 2002).

Assim como a D1, a atividade da D3 é estimulada pelo T_3 , o que é observado em pacientes com hipertireoidismo, onde a atividade da D3 no sistema nervoso central apresenta-se aumentada, fato esse condizente com a natureza inativadora dessa enzima (Bianco *et al*, 2002).

O exercício é uma situação de estresse que compromete a homeostase, devido a isso, o organismo necessita atingir um novo ponto de equilíbrio dinâmico. Por isso, um dos sistemas que podem ser afetados é o eixo hipotálamo-hipófise-tireóide, com a mudança no padrão de secreção das glândulas desse eixo e também pela metabolização periférica dos hormônios tireóideos. Porém, a influência do exercício

físico sobre a função tireóidea é controversa e depende da intensidade e da duração do protocolo de exercício (Mastorakos *et al*, 2005).

As respostas crônicas e agudas parecem promover efeitos diferentes e opostos nas concentrações plasmáticas de hormônio tireóideo em ratos, de forma que quando se inicia o exercício há uma fase inicial de aumento de T_3 e T_4 que desaparece gradualmente ao longo do tempo (Wirth *et al*, 1981). Após um treinamento aeróbico, em que o índice de massa corporal e tecido adiposo permaneceu inalterado, um significativo aumento no TSH foi encontrado, enquanto diminuição do TSH foi visto quando indivíduos foram submetidos ao treinamento de força. Isso sugere que o fluxo de energia durante o treinamento intenso, como o de força, causa diminuição no eixo hipotálamo-hipófise-tireóide independente de alterações no tecido adiposo e no índice de massa corporal. Logo, alterações no eixo hipotálamo-hipófise-tireóide podem estar associadas à intensidade do exercício.

O exercício físico ativa o sistema nervoso simpático, aumentando a secreção de catecolaminas pelas terminações nervosas e pela medula adrenal. As ações das catecolaminas são profundamente influenciadas pelos hormônios tireóideos, os quais aumentam o número e a afinidade dos receptores β -adrenérgicos no coração e, possivelmente, em outros tecidos, sendo que os efeitos diretos dos hormônios tireóideos no coração se assemelham aos da estimulação β -adrenérgica (American College of Sports Medicine, 2003).

O efeito termogênico das catecolaminas no TAM se dá através das fibras simpáticas vindas do hipotálamo, as quais inervam diretamente

cada célula e agem através da liberação de noradrenalina, que ativa mecanismos responsáveis pela produção de calor (Nedergaard e Lindberg, 1979).

A noradrenalina promove a lipólise e a oxidação de ácidos graxos na mitocôndria, aumenta a produção de ATP como resultado do bombeamento de prótons pela membrana interna da mitocôndria. A ativação da proteína desacopladora 1 (UCP1) permite o desacoplamento entre a síntese de ATP e a cadeia respiratória, resultando na produção de calor (Garlid *et al*, 1998). Altas concentrações de T_3 são necessárias para o recrutamento das células do TAM e para a regulação positiva da UCP1; sendo necessário que neste tecido o T_3 seja gerado localmente pela ação da D2 (Silva e Larsen, 1983).

Em humanos e em animais, os estudos mostrando o impacto do exercício físico sobre a função do eixo adenohipófise-tireóide são controversos e se utilizam dos mais variados tipos de treinamento (Michalaki *et al*, 2001).

No estudo de Refsum e Strømme (1979), T_3 , T_4 e TSH foram medidos em homens bem-treinados antes, imediatamente após e nos dias que se seguiram a uma corrida de 70 km de esqui. Os níveis plasmáticos de T_4 aumentaram imediatamente após a corrida, mas diminuíram no dia seguinte e até 4 dias após o final da corrida não tinham voltado aos níveis em que se encontravam antes do exercício. T_3 apresentou o mesmo padrão. TSH mostrou tendência a aumentar imediatamente após a corrida, mas teve um aumento de 1,75 vezes no dia seguinte, não

retornando aos valores em que se encontrava antes do exercício e até 4 dias depois do seu término.

Ainda em humanos, no estudo de Gawel *et al* (1979) e de Terjung e Tipton (1971), não houve variações nos níveis plasmáticos de TSH durante e após o exercício submáximo de baixa intensidade. Porém, Schmid *et al* (1982) mostraram um incremento contínuo nos níveis de TSH 15 minutos após terminar a sessão de exercício submáximo de longa duração, ao contrário do decréscimo nos níveis de TSH observado no exercício máximo.

Sullo *et al* (2003) submeteram ratos a uma sessão de exercício de natação até a exaustão e observaram aumento nos níveis de TSH e decréscimo nos níveis de T_3 e T_4 ao fim do exercício, além de uma resposta diminuída do TSH ao teste de estímulo com TRH.

Uma consequência do efeito do exercício crônico sobre os níveis dos hormônios tireóideos se assemelha ao encontrado na síndrome do T_3 baixo (Michalaki *et al*, 2001). A síndrome do T_3 baixo ocorre durante doenças agudas graves e é caracterizada por alterações nos níveis de hormônios tireóideos que refletem uma situação de adaptação metabólica. Essa alteração se caracteriza por baixos níveis plasmáticos de T_3 total e aumento dos níveis plasmáticos de T_3 reverso (rT_3), uma iodotironina sem atividade biológica. Além disso, há aumento de cortisol e de citocinas, como a Interleucina 6 (IL-6) e fator α de necrose tumoral (TNF- α). Muita atenção tem sido dada para o papel de IL-6 e TNF- α no desenvolvimento da síndrome, pelos seus efeitos no eixo hipotálamo-

hipófise-adrenal e especialmente na liberação de cortisol (Michalaki *et al*, 2001).

O cortisol liberado durante o estresse suprime o eixo adenohipófise-tireóide de muitas maneiras: através da supressão da secreção de TSH, diminuindo a produção tireóidea de T_3 e T_4 , além de diminuir a formação de T_3 a partir do T_4 em tecidos periféricos por inibir a atividade da D2 e aumentar a produção de rT_3 . Portanto, foi sugerido que o exercício poderia representar uma condição de estresse na qual tanto a hipercortisolemia, quanto o estímulo da secreção de IL-6 endógena podem levar à síndrome do T_3 baixo (Loucks e Heath, 1994).

Sabe-se que o exercício físico influencia o metabolismo energético, aumentando o gasto energético e a taxa metabólica basal por muitas horas após o exercício. Muitos mecanismos adaptativos que envolvem o sistema endócrino participam dessas alterações (Ciloglu *et al*, 2005).

A adaptação é um fenômeno biológico que tem grande relevância na prática no esporte. O treinamento regular provoca uma série de estímulos que produzem modificações e adaptações estruturais e funcionais as quais representam a base sobre a qual se constrói uma maior capacidade de desempenho de atletas (Tourinho Filho, 2001).

As adaptações do organismo decorrentes dos processos de treinamento desportivo podem ser de ordem aguda ou crônica. As chamadas adaptações (respostas) agudas são aquelas que ocorrem durante e imediatamente após o exercício, buscando o retorno a um estado de equilíbrio orgânico e o atendimento às demandas do estímulo imposto

pela atividade física. Já as adaptações orgânicas crônicas são efeitos do treinamento desportivo e correspondem a alterações morfofisiológicas derivadas da repetição sistemática de exercícios. São exemplos de adaptações agudas as elevações da frequência cardíaca, da temperatura corporal, do volume sistólico, da frequência e do volume respiratórios. Por sua vez, como exemplo de adaptações crônicas podemos citar: hipertrofia muscular, bradicardia de repouso e elevação da potência aeróbia (Tourinho Filho, 2001).

Segundo Lehmann *et al* (2000), as respostas hormonais agudas ao exercício estão principalmente relacionadas à regulação metabólica e estão ligadas à homeostase da glicose na célula muscular e ao balanço de triglicerídeos no tecido adiposo.

1.1.7- TIREÓIDE E ESTROGÊNIO

Há vários estudos a respeito da influência dos esteróides gonadais femininos sobre a função tireóidea, visto que doenças tireóideas são bem mais frequentes em mulheres do que em homens (Wilber, 1995). Entretanto, os dados acerca da influência dos esteróides gonadais sobre a função tireóidea ainda são controversos.

Estrogênio e hormônio tireóideo são conhecidos por seus efeitos na reprodução e crescimento de mamíferos. São moléculas que se ligam a receptores intracelulares: o receptor de estrogênio (ER) e o receptor de hormônio tireóideo (TR). Esses receptores nucleares são ativados por ligantes e regulam a transcrição de genes alvos. O cérebro é um

importante alvo de ação para ambos. Na hipófise, o estrogênio via ER exerce controle central neuroendócrino sobre a produção de gonadotrofinas, controlando assim a reprodução (Fujimoto *et al*, 1994).

Embora o TR tenha uma alta afinidade pelo elemento responsivo ao hormônio tireóideo (TRE), o receptor de estrogênio pode interferir na transcrição dependente de hormônio tireóideo. Da mesma forma, TR também é capaz de interagir com o elemento responsivo ao estrogênio (ERE) (Scott *et al*. 1997).

No estudo de Dellovade *et al* (1996) o aumento de T₃ plasmático afetou o comportamento reprodutor feminino. Eles observaram que interações moleculares entre TRs e ERs são suficientes para mediar efeitos no comportamento reprodutor controlado pelo estrogênio. Nesse estudo, ratas ovariectomizadas tratadas com altas doses de T₃ apresentaram níveis significativamente maiores de rejeição aos machos em resposta ao benzoato de estradiol (Eb) comparadas com as ratas ovariectomizadas tratadas somente com benzoato de estradiol. Isso sugere que o T₃ pode interferir no comportamento sexual que seria dependente de estrogênio através da interação entre TR e ER no hipotálamo (Dellovade *et al*,1996).

Em condições de hipotireoidismo, a concentração de ER diminui na hipófise de ratos, enquanto no hipertireoidismo a concentração aumenta (André *et al*, 1982). A estimulação da mitose no epitélio uterino pelo estrogênio está reduzida em ratos hipotireóideos (Franklyn *et al*, 1994). Por outro lado, mulheres com aumento de hormônio tireóideo

apresentam alterações no ciclo menstrual e diminuição da fertilidade (McKenzie, 1995).

1.1.8- TIREÓIDE E CASTRAÇÃO

A prevalência de disfunções tireóideas é maior em mulheres do que em homens. Essas alterações aparecem ao mesmo tempo em que se alteram os níveis dos esteróides sexuais, em particular durante a puberdade, na gravidez e no período da menopausa. Devido a esses aspectos clínicos, vários estudos experimentais com ratos têm visto a influência dos hormônios sexuais na função tireóidea, mas a natureza e significância dessa influência ainda não são bem estabelecidas (Donda *et al*, 1990).

Alguns estudos procuraram examinar os efeitos da ovariectomia e do tratamento com estradiol na função do eixo hipófise – tireóide (Susic-Jurjevic, 2006; Böttner e Wuttke, 2005, Lisbôa *et al*, 2001).

A presença das duas isoformas de receptores de estrogênio já foi demonstrada na tireóide (Kawabata *et al*, 2003). Em humanos, detectou-se, a presença de RNAm e proteína do receptor de estrogênio (ER) em tecidos tireóideos neoplásicos e, em menor escala, em tecidos tireóideos normais (Yane *et al*, 1994). Além disso, foi demonstrada a presença de ER em tumores tireóideos de ratos (Hiasa *et al*, 1993).

Assim, o estrogênio poderia, *in vivo*, modular diretamente a expressão de genes que codificam proteínas essenciais para a biossíntese dos hormônios tireóideos. No entanto, a ação do estrogênio pode variar

segundo a dose, o tipo de receptor e ainda segundo o número de seus receptores no tecido. Em ratas castradas e tratadas com benzoato de estradiol, observou-se aumento do número de receptores de estrogênio no útero (Tsai *et al*, 1998).

No estudo de Lima *et al* (2006) foi observado aumento da captação tireóidea após 15 minutos de administração de radioiodo e no conteúdo tireóideo após 2 horas da administração deste radiofarmaco, bem como da atividade da TPO com administração de doses altas de estrogênio (14µg/100g de peso corporal). Os autores atribuíram a isso uma possível *up-regulation* dos ERs na tireóide de ratas ovariectomizadas tratadas com estrogênio. Embora não haja qualquer referência sobre a regulação de receptores de estrogênio na tireóide, estes resultados sugerem a possibilidade de ter havido aumento da ação do estrogênio na tireóide após a ovariectomia. Apesar desses resultados, não houve diferenças na concentração sérica de T₄ total entre os grupos de ratas Ovx tratadas ou não com Eb por 10 dias (Lima *et al*, 2006).

No estudo de Sosic-Jurjevic (2006) nenhuma diferença significativa foi encontrada nos níveis séricos de TSH e T₄ 30 dias após ovariectomia, bem como no grupo tratado com doses fisiológicas de estradiol. Porém, a concentração sérica total de T₄ diminuiu 21% nos animais tratados com doses fisiológicas de estradiol comparado ao grupo ovariectomizado.

No estudo de Marassi *et al* (2007), 21 dias de ovariectomia não alterou o TSH e o T₄ séricos, mas houve uma diminuição significativa no

T₃ plasmático. Foi observado por Lima *et al* (2006) o mesmo perfil hormonal em ratas 21 dias após ovariectomia.

Quando a reposição com estradiol nas doses de 0,7 e 14 µg/100g de peso corporal foi feita, os níveis plasmáticos de TSH não se alteraram, os níveis de T₃ se normalizaram e os de T₄ diminuíram (Marassi *et al*, 2007). No estudo de Lima *et al* (2006) doses fisiológicas e suprafisiológicas de 0,7 e 14 µg/100g de peso corporal, respectivamente, não alteraram o T₄ e o TSH séricos, porém restauraram os níveis plasmáticos de T₃.

Com relação à metabolização periférica dos hormônios tireóideos, no estudo de Marassi *et al* (2007), a ovariectomia não alterou a atividade da D1 renal, hepática, tireóidea e hipofisária. O tratamento com estradiol nas doses de 0,7 e 14 µg/100g de peso corporal, aumentou a atividade da D1 hepática, renal (altas doses) e tireóidea (ambas as doses), somente a D1 hipofisária não sofreu alterações com ambas as doses.

Logo, segundo Marassi *et al* (2007), a ovariectomia parece não promover qualquer mudança significativa na D1 hepática, renal, tireóidea e hipofisária das fêmeas e o estrogênio parece modular positivamente a atividade da D1 hepática, renal e tireóidea. Estes autores propuseram que o aumento da D1 tireóidea pelo estrogênio possa ter contribuído para o aumento da relação sérica de T₃/ T₄.

A ovariectomia de 14 dias ou a administração de E2 não alteraram a atividade da D1 no fígado de ratas (Miyashita *et al*. 1995). Lisbôa *et al* (2001) mostraram que 21 dias de ovariectomia diminuiu a D1 hepática. Porém, no estudo de Lisbôa *et al* (1997) 21 dias de ovariectomia

diminuiu a D1 hipofisária e o tratamento com estradiol na dose de 0,7 µg/100g de peso corporal foi capaz de reverter essa atividade ao nível dos animais controle e altas doses de Eb (14 µg/100g de peso corporal) aumentou significativamente a D1 tireóidea que se encontrava normal.

1.1.9- EXERCÍCIO FÍSICO E CASTRAÇÃO

Com relação aos efeitos do estrogênio sobre o gasto energético, acredita-se que esse esteróide seja capaz de regular a expressão de proteínas desacopladoras da mitocôndria (UCPs) nos tecidos adiposo branco e marrom. Ratas ovariectomizadas apresentam redução na expressão de UCP1 no tecido adiposo marrom, entretanto, a expressão de UCP2 e UCP3 não se altera com a diminuição de estrogênio (Pedersen *et al*, 2001).

Contudo, observa-se redução na expressão de UCP2 no tecido adiposo branco de ratas ovariectomizadas. A redução na expressão das UCPs 1 e 2 nestes diferentes tipos de tecidos poderia ser um dos fatores responsáveis pelo decréscimo no gasto energético e conseqüente aumento da massa corporal em ratas ovariectomizadas (Pederson *et al*, 2001).

Há dimorfismo sexual em relação ao nível de atividade física em animais (Tou e Wade, 2002), pois estudos com roedores sugerem que as fêmeas são mais ativas que os machos (Joseph *et al*, 1978, Tropp *et al*, 2001).

Uma das hipóteses para esse dimorfismo sexual são os altos níveis de estrogênio observados nas fêmeas, já que o papel do estrogênio na

regulação da atividade física pode ser observado através de mudanças hormonais que acompanham o ciclo estral de ratas. Durante a fase do proestro, em que os níveis plasmáticos de estrogênio estão elevados, há aumento na atividade física. Por outro lado, na fase do diestro, quando os níveis de estrogênio estão baixos, ocorre diminuição na atividade física das ratas (Colvin e Sawyer, 1969).

Estudos com ratas ovariectomizadas também reforçam a importância do estrogênio na regulação da atividade física. Ratas ovariectomizadas tiveram uma diminuição da atividade voluntária de corrida. Porém, quando tratadas com doses fisiológicas de estrogênio esses animais recuperavam o nível de atividade física que tinham antes da ovariectomia (Colvin e Sawyer, 1969).

Colvin e Sawyer (1969) observaram que durante o proestro, quando os níveis de estrogênio são mais altos, há diminuição da ingestão alimentar resultando em perda de peso; esta redução na massa corporal pode ser um mecanismo responsável pelo aumento da atividade física durante esta fase do ciclo estral.

Por outro lado, o ganho de massa corporal parece regular a atividade física. Shimomura *et al* (1990) mostraram que não houve mudanças na ingestão alimentar de ratas ovariectomizadas que apresentaram aumento de massa corporal e diminuição da atividade quando comparadas às do grupo controle. Assim, o ganho de massa corporal poderia ser causado pela redução do gasto energético e pelo decréscimo gradual na atividade locomotora de ratas ovariectomizadas.

No estudo de Richard *et al* (1987), eles procuraram ver as possíveis interações entre exercício físico e hormônios ovarianos no balanço energético de ratas ovariectomizadas. Os resultados obtidos mostraram que o exercício crônico em esteira rolante por 5 semanas reduziu o ganho em massa gorda. Neste mesmo estudo, houve aumento da ingestão alimentar, que foi revertido pelo tratamento com estradiol. É provável que o ganho de peso se deva ao aumento da ingestão, já que a termogênese no TAM nas ratas tratadas ou não com estrogênio não se alterou após o exercício crônico.

No estudo de Latour *et al* (2001), o exercício regular em esteira rolante durante 8 semanas não reduziu o ganho de massa corporal ou a ingestão alimentar nas ratas ovariectomizadas e intactas tratadas ou não com estrogênio, porém, isso não significa que a composição corporal não tenha sido alterada com o treinamento.

Ao contrário, o estudo de Melton *et al* (2000), mostrou que o treinamento de natação durante 8 semanas impediu o ganho de massa corporal após ovariectomia, apesar do aumento da ingestão alimentar.

Sabemos que a ovariectomia e o exercício físico são conhecidos por terem efeitos opostos sobre o balanço energético, que o balanço energético pode ser regulado alterando-se a ingestão ou modificando aspectos no gasto energético e que a função tireóidea se altera a curto prazo após castração. Além disso, poucos estudos mostram a influência da castração e do exercício físico sobre a função tireóidea e o ganho de massa corporal.

1.1.10- OBJETIVOS GERAIS

Avaliar a influência do treinamento físico sobre o ganho de massa corporal e função tireóidea de ratas ovariectomizadas.

1.1.11- OBJETIVOS ESPECÍFICOS

-Analisar o ganho de massa corporal e a ingestão alimentar durante 9 semanas de ovariectomia, em ratas sedentárias ou treinadas por 8 semanas;

- Avaliar a composição corporal (conteúdo de proteínas e lipídios) e a massa de diversos órgãos ao término do período experimental;

- Avaliar a função tireóidea e a metabolização periférica dos hormônios da tireóide através da medida das atividades desidases tipos 1 e 2.

2- MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 – ANIMAIS

Ratas Wistar jovens, de 2 meses, pesando em média 200g, foram mantidas em condições controladas de temperatura ($24 \pm 1^{\circ}\text{C}$) e ciclos controlados de claro-escuro invertidos (12h:12h) com luz acesa às 19h. Os animais permaneceram em gaiolas coletivas, num máximo de 5 animais por gaiola, divididas em quatro grupos diferentes. Todos os experimentos foram realizados de acordo com os padrões de cuidados com os animais, definidos pelo comitê institucional (www.biof.ufrj.br/cauap.doc). Todos os animais tiveram água e ração oferecidos *ad libitum*.

2.2 – CITOLOGIA VAGINAL

Realizamos a citologia vaginal dos animais a fim de selecionarmos os que apresentassem ciclo estral regular de 4 a 5 dias. Um grupo de ratas fizeram parte do grupo falso-operado e as demais foram ovariectomizadas.

Para observar as variações cíclicas que ocorrem durante o ciclo estral, a citologia vaginal foi realizada através de esfregaço com NaCl 0,9%, por um período de 2 semanas em todos os animais. Somente foram incluídas no grupo controle as ratas que apresentavam ciclo estral regular de 4 a 5 dias.

2.3– OVARECTOMIA

Realizamos a castração das ratas sob anestesia com Xilazina (5 mg/kg) e Cetamina (50 mg/kg) intraperitoneal, fazendo remoção bilateral dos ovários. Os animais do grupo controle sofreram estresse cirúrgico (anestesia, corte e sutura).

Após uma semana de recuperação da cirurgia, os animais foram subdivididos em quatro grupos experimentais diferentes. Os animais do grupo treinado foram escolhidos aleatoriamente:

- ▶ Ratas sedentárias não ovariectomizadas (CS), n = 16
- ▶ Ratas sedentárias ovariectomizadas (OS), n = 18
- ▶ Ratas treinadas não ovariectomizadas (CT), n = 15
- ▶ Ratas treinadas ovariectomizadas (OT), n = 17

O percentual de perda de animais devido a complicações cirúrgicas foi de 11%.

2.4 – CONTROLE DA MASSA CORPORAL (MC)

A massa corporal destes animais foi monitorada a cada 2 dias, utilizando-se uma balança digital com variação de duas casas decimais (precisão de centigramas) da marca *Precision* até o fim do treinamento de 8 semanas.

2.5- TREINAMENTO

Durante 8 semanas, as ratas foram submetidas ao treinamento de natação, segundo protocolo adaptado de Melton *et al* (2000).

As ratas nadavam em dois galões de plástico de 100 litros (50 cm de diâmetro e profundidade da água de aproximadamente 60 cm), com o máximo de 4 animais em cada galão. A temperatura da água era mantida entre 31 e 34° C (temperatura termoneutra como descrito por Mc Ardle (1967)).

O protocolo de treinamento (Figura 4) consistia em 4 semanas de adaptação e 4 semanas de treinamento. A frequência do treino era de 5 vezes/semana (de segunda a sexta-feira) na parte da manhã. Os animais nadavam durante 5 minutos no primeiro dia e a cada dia a duração do treino aumentava em 5 minutos até atingir 40 minutos na segunda semana, essa duração foi mantida até o final da terceira semana. Na quarta semana a duração voltava a sofrer incremento de 5 minutos até alcançar 75 minutos, como permaneceu até o final das 8 semanas. As ratas nadavam livremente e eram constantemente supervisionadas durante o período de treinamento, que acontecia sem incremento de carga adicional. O consumo de oxigênio de ratas que nadam sem peso adicional foi avaliado por Mc Ardle (1967) como sendo de 2 a 7 vezes maior que o consumo de oxigênio em estado de repouso, o que é considerado um exercício de intensidade moderada (Baker e Horvath, 1964). Após cada sessão de treinamento os animais eram enxugados com uma toalha e colocados de volta em suas respectivas gaiolas.

	segunda	terça	quarta	quinta	sexta
semana 1	5'	10'	15'	20'	25'
semana 2	30'	35'	40'	40'	40'
semana 3	40'	40'	40'	40'	40'
semana 4	45'	50'	55'	60'	60'
semana 5	65'	70'	75'	75'	75'
semana 6	75'	75'	75'	75'	75'
semana 7	75'	75'	75'	75'	75'
semana 8	75'	75'	75'	75'	75'

Figura 4 – Protocolo de treinamento.

2.6 – SACRIFÍCIO DOS ANIMAIS

Os animais foram sacrificados através de decapitação, ao final da oitava semana de treinamento, um dia após a última sessão, para obtenção do sangue e dos tecidos estudados.

2.7- COLETA DE SANGUE E EXCISÃO DOS TECIDOS

O sangue foi coletado e centrifugado (1000g) para obtenção do soro que foi armazenado a - 20°C até o momento da dosagem das concentrações séricas de TSH, T₃, T₄, através de radioimunoensaio (RIE) específico.

Foram excisadas amostras de fígado e rim e a tireóide, a hipófise e o tecido adiposo marrom (TAM) que a seguir foram armazenados a -70°C para posterior dosagem da atividade das enzimas desidases tipo 1 ou 2,

dependendo do tecido. O TAM, a hipófise e a tireóide de cada animal foram pesados antes do armazenamento.

Subseqüente a excisão dos tecidos, retiramos o tecido adiposo presente na cavidade retroperitoneal, além da gordura inguinal e pélvica. Todas elas foram pesadas e relacionadas com o peso corporal do animal no dia do sacrifício.

2.8- RADIOIMUNOENSAIO (RIE)

2.8.1- TSH

As medidas de TSH foram realizadas por RIE específico, através de um kit fornecido pelo *National Institute of Diabetes, Digestive and Kidney Diseases* (NIDDK – Bethesda, EUA), expressos em termos da preparação de referência 2 (RP – 2). Este Kit é composto por TSH murino purificado para preparação dos padrões utilizados para a construção da curva-padrão (0,625 a 25 ng/ml), TSH murino purificado para ser iodado e anticorpo de coelho anti-TSH murino (1º anticorpo).

A iodação da molécula do TSH com ^{125}I foi feita em nosso laboratório, pelo método da cloramina T e a molécula marcada foi purificada em uma coluna (Biogel – P60 fino da Bio-rad, EUA). O RIE foi realizado pelo método do 2º anticorpo, com adição de 6% de polietilenoglicol (Ortiga-Carvalho, 1996). Os resultados foram expressos em ng/ mL.

2.8.2- T₃ e T₄ TOTAIS

As concentrações séricas de T₃ e T₄ foram determinadas através de Kit comercial para RIE de T₃ (MP Biomedicals, Diagnostic Division, New York, USA) e T₄ (MP Biomedicals, Diagnostic Division, New York, USA) totais, contendo anticorpos específicos aderidos à parede dos tubos de polipropileno e com T₃ e T₄ marcados com radioiodo (¹²⁵I). As curvas-padrão foram realizadas conforme instruções dos kits, com T₃ e T₄ diluídos em soro humano livre de iodotironinas (soro zero) nas concentrações de (50 a 800 ng/dl) e (1 a 50 µg/dl), respectivamente. Todo o procedimento foi realizado seguindo-se as recomendações do fornecedor.

2.9- ATIVIDADE DAS IODOTIRONINAS DESIODASES TIPO I E TIPO II

Para avaliar a atividade da enzima D1 utilizamos as técnicas desenvolvidas por Berry *et al* (1991), e posteriormente adaptadas em nosso laboratório de acordo com o protocolo de Larsen e Bianco obtido através de comunicação pessoal.

Para avaliar a atividade da enzima D2 utilizamos as técnicas desenvolvidas por Salvatore *et al* (1996), igualmente adaptadas em nosso laboratório, de acordo com Larsen e Bianco. Para tanto seguimos as etapas descritas abaixo:

2.9.1- PROCESSAMENTO DOS TECIDOS

Para a mensuração da atividade da D1, as amostras de fígado, e rim, foram pesadas e homogeneizadas em tampão fosfato (100mM) sucrose-DTT (0,25 M de sucrose e 10 mM de DTT) (25 mg de tecido em 1mL). Para as amostras de tireóide e hipófise, cada glândula foi processada em 500µL do tampão acima. Para a mensuração da atividade da D2 foram pesados 40 mg de TAM para 1 mL de tampão e 1 glândula hipófise para 500µL de tampão. Os tecidos foram homogeneizados no homogeneizador Ultra-Turrax T25 (Ika-Labortechnik) até suficiente dissociação tecidual, após essa etapa foram colocados em tubos eppendorf e congelados no freezer -70°C até o dia do ensaio. Alíquotas de 20µL dos homogenados foram guardadas separadamente no freezer -20°C para dosagem de proteínas pelo método de Bradford (1976).

2.9.2- PURIFICAÇÃO DO rT_3 -I¹²⁵ e T_4 -I¹²⁵

Devido à ocorrência de desiodação das iodotironinas marcadas mesmo sem a presença da enzima, antes do experimento de dosagem das atividades D1 e D2 foi necessário purificar o traçador radioativo para termos a certeza de que todo iodo radioativo presente após a reação enzimática advinha da ação da enzima. Para isso, utilizamos uma coluna de Sephadex L20 (Amersham Biosciences) (4 mL de H₂O/ g de gel seco) através da qual filtramos uma alíquota de 70µL do rT_3 para o ensaio de

atividade da D1 ou T_4 marcado para atividade da D2 (PerkinElmer Life and Analytical Sciences) diluída em 12mL de H_2O MilliQ. O eluato foi desprezado, pois o rT_3 ou o T_4 radioativo que eram os compostos de interesse, ficam retidos na trama da coluna. Após essa etapa, a coluna foi lavada com 6mL de H_2O MilliQ, e após escorrer todo o líquido, foram adicionados 500 μ L de etanol 70% por nove vezes. O eluato de etanol 70% com as iodotironinas de interesse foi colhido em nove tubos de vidro, de onde 5 μ L foram retirados para contagem da radioatividade no contador gama automático (Wizard 1470), com o intuito de determinar a quantidade de rT_3 ou T_4 radioativo presente em cada tubo.

2.9.3- ENSAIO DE ATIVIDADE D1

Para a dosagem da atividade da D1 foram adicionados a tubos eppendorf nessa ordem: tampão PE (100mM fosfato de sódio, 1mM EDTA, pH 6,9) em volume calculado para um volume total de reação de 300 μ L, dithiotreitol (DTT) 10 mM (que é um cofator da enzima), rT_3 frio (não radioativo) 1 μ M, e por último foi adicionado o homogenado do tecido num volume que foi calculado para obtermos uma quantidade de proteína de 30 μ g para fígado, rim, e tireóide, e 150 μ g para hipófise. As dosagens das concentrações de proteínas dos homogenados, pelo método de Bradford (1976), foram feitas após incubação da amostra por 30 minutos com NaOH 1:1. Após adição dessas substâncias, a reação foi iniciada com a colocação de 50 μ L do rT_3 -I¹²⁵ em todos os tubos, e

posterior incubação por uma hora a 37°C. Decorrido o tempo de incubação, os tubos foram colocados no gelo para parar a reação, e foi então adicionado 200µL de soro fetal bovino (Cultilab, BR) e 100µL de ácido tri-cloro acético(TCA) 50% para a precipitação das proteínas. Em seguida, os tubos foram agitados vigorosamente no vortex por 2 minutos e então centrifugados a 8.000g por 3 minutos. Após a centrifugação, transferimos 360µL do sobrenadante de cada tubo para tubos de polipropileno e medimos a emissão de partículas γ no aparelho Wizard contador gama. A atividade da enzima foi expressa em pmoles de rT_3 / min^{-1} / mg^{-1} de proteína.

2.9.4- ENSAIO DE ATIVIDADE D2

Para a dosagem da atividade da D2, foram adicionados a tubos eppendorf nessa ordem: tampão PE (100mM fosfato de sódio, 1mM EDTA, pH 6,9) em volume calculado para um volume total de reação de 300µL, dithiotreitol (DTT) 20 mM (que é um cofator da enzima), T_4 frio 1nM, PTU 10 mM (para inibição da D1) e por último foi adicionado o homogenado do tecido num volume que foi calculado para obtermos uma quantidade de proteína de 150 µg para TAM e 50 µg para hipófise. As dosagens da concentração de proteína dos homogenados, pelo método de Bradford (1976), foram feitas após incubação da amostra por 30 minutos com NaOH 1:1. Após adição dessas substâncias, a reação foi iniciada com a colocação de 100µL do $T_4\text{-I}^{125}$ em todos os tubos, e posterior

incubação a 37°C por 2 horas para BAT e 3 horas para hipófise. Decorrido o tempo de incubação, os tubos foram colocados no gelo para parar a reação, e foi então adicionado 200µL de soro fetal bovino (Cultilab, BR) e 100µL de ácido tri-cloro acético (TCA) 50% para a precipitação das proteínas. Em seguida, os tubos foram agitados vigorosamente no vortex por 2 minutos e então centrifugados a 8.000g por 3 minutos. Após a centrifugação, transferimos 360µL do sobrenadante de cada tubo para tubos de polipropileno e medimos a emissão de partículas γ no aparelho Wizard. A atividade da enzima foi expressa em fmoles de T_4 / min⁻¹/ mg⁻¹ de proteína.

2.10-COMPOSIÇÃO CORPORAL PELO MÉTODO DA CARÇAÇA

A avaliação da composição corporal foi realizada através de método previamente descrito por Leshner *et al* (1972). Após serem autoclavadas (120°C) durante 1 hora, as carcaças foram processadas com a adição de água de 1:1 em relação ao peso corporal em liquidificador industrial, as amostras obtidas foram então armazenadas em tubos falcon de 15 mL e estocadas em freezer -20°C para posterior dosagem.

2.10.1- GORDURA CORPORAL

Determinado pelo método descrito por Stanbie *et al* (1976) e adaptado em nosso laboratório. Pesamos 2g do homogenado de rato que foram incubados com 3 ml de KOH 30% a 70°C por 15 minutos. Após a incubação, foram adicionados 3 mL de etanol absoluto, os tubos foram agitados levemente e incubados em banho-maria por 2 horas a 70°C. Após o esfriamento da amostra, foram adicionados 2,5 mL de ácido sulfúrico 6 M e a amostra foi então agitada no vórtex. Em seguida, foram adicionados 8 mL de éter de petróleo, com posterior agitação durante 10 minutos. As amostras foram centrifugadas à temperatura ambiente até a velocidade chegar em 500g. Após a centrifugação, o sobrenadante foi guardado em um tubo falcon e ao pellet foram adicionados mais 6 mL de éter de petróleo, com posterior incubação com agitação à temperatura ambiente por 10 minutos, seguida de nova centrifugação até 500g. O sobrenadante foi então adicionado ao sobrenadante inicial e ao pellet foram adicionados mais 4 mL de éter de petróleo, seguindo as mesmas etapas anteriormente descritas. Ao final dessas etapas, ao tubo onde foram colocados os sobrenadantes foram adicionados 2 mL de água Milli Q, que foi agitado manualmente com vigor. Os tubos foram então colocados em estantes para a separação de 2 fases. A fase inferior foi então aspirada com pipeta Pasteur e desprezada. O tubo com a amostra obtida foi colocado sem tampa em capela até a evaporação total. Após evaporação, o tubo foi pesado e o peso inicial do tubo (tubo limpo sem amostra) foi subtraído do peso final (tubo com amostra) para a obtenção

da quantidade de gordura referente às 2g de amostra utilizadas. Os resultados foram expressos como g de gordura/ 100g carcaça.

2.10.2- PROTEÍNA CORPORAL

Foi pesado 1g do homogenado de rato, o qual foi incubado por 1 hora a 37°C com 10 mL de KOH 0,6N, seguida de 15 minutos de agitação contínua. A amostra foi então centrifugada por 10 minutos a 1000g e congelada em freezer -20°C para posterior dosagem. A concentração de proteína das amostras foi realizada através do método de Lowry *et al* (1951) e os resultados foram expressos como mg de proteínas por 100 g de carcaça.

2.11 – ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os dados foram expressos como média $\pm$ erro padrão da média. Foram realizados quatro experimentos diferentes, com o mínimo de 3 animais por grupo em cada experimento. Houve pequena perda de animais ao longo dos experimentos.

A análise estatística utilizada na comparação dos resultados apresentados foi realizada com a utilização do programa de computador de estatística Graphpad Prism (versão 4, Graphpad Software, inc., San

Diego, USA). As diferenças foram consideradas significativas quando $P < 0,05$.

Para a análise estatística dos resultados de composição e massa corporais, concentrações séricas de T_3 , T_4 e a atividade da enzima D1 e D2 dos grupos experimentais empregamos a análise de variância (ANOVA) bivariada com Bonferroni.

Os níveis séricos de TSH foram avaliados através da análise de variância de Kruskal-Wallis, seguida pelo teste de comparação múltipla de Dunn.

3- RESULTADOS

3.1- MASSA CORPORAL, INGESTÃO E EFICIÊNCIA ALIMENTAR

O ganho de massa corporal dos animais encontra-se na figura 5. As ratas ovariectomizadas sedentárias (OS) e treinadas (OT) tiveram um aumento significativo de massa corporal comparadas aos grupos controles (CS e CT).

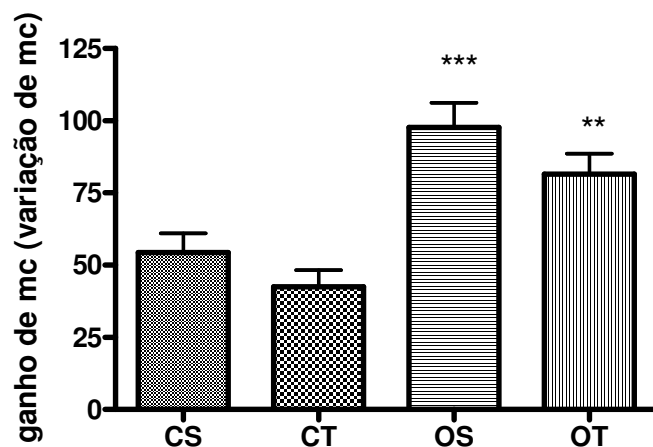


Figura 5- Efeito do exercício e ovariectomia sobre o ganho de massa corporal (mc). Controle sedentária (CS, n= 16); controle treinada (CT, n=14); ovariectomizada sedentária (OS, n=10); ovariectomizada treinada (OT, n=10). Os valores são média $\pm$ EPM ** p<0,01 vs CS e CT e *** p<0,001 vs CS e CT, n= número de ratos.

A figura 6 mostra a ingestão alimentar por semana de cada animal, indicando que houve aumento significativo da ingestão em ambos os grupos castrados (OS e OT) em relação aos grupos controles (CS e CT).

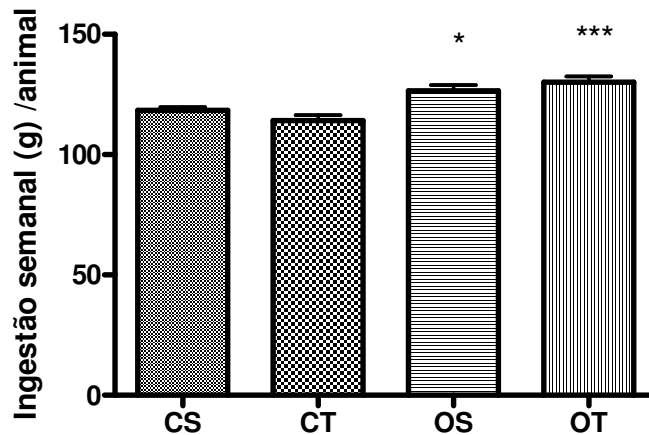


Figura 6– Ingestão alimentar semanal de cada animal. Controle sedentária (CS, n= 16); controle treinada (CT, n=14); ovariectomizada sedentária (OS, n=10); ovariectomizada treinada (OT, n=10). Os valores são média $\pm$ EPM * p<0,05 vs CS e CT e *** p<0,001 vs CS e CT; n= número de ratos.

A figura 7 indica a eficiência alimentar destes animais, calculada com base na variação de massa corporal para cada 100g de ração ingerida (Sanchez-Mateos *et al*, 2007) mostrando que ambos os grupos castrados (OS e OT) apresentaram uma eficiência alimentar significativamente maior que os grupos controles (CS e CT)

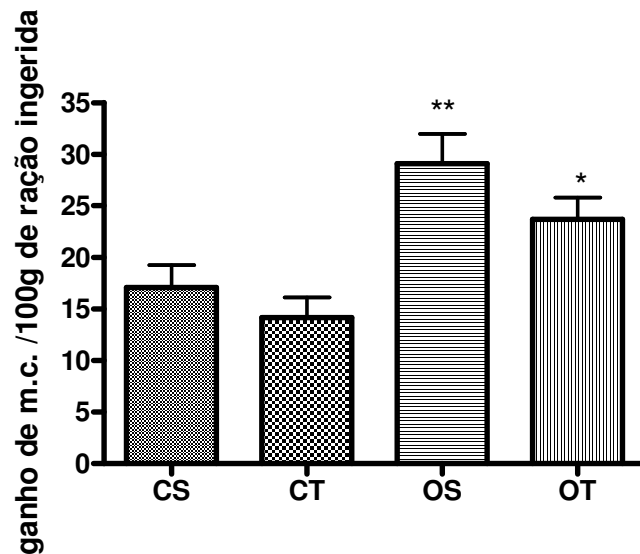


Figura 7– Eficiência alimentar. Controle sedentária (CS, n= 16); controle treinada (CT, n=14); ovariectomizada sedentária (OS, n=10); ovariectomizada treinada (OT, n=10). Os valores são média $\pm$ EPM * $p < 0,5$ vs CS e CT e ** $p < 0,01$ vs CS e CT; n= número de ratos.

3.2- COMPOSIÇÃO CORPORAL

3.2.1- CARÇAÇA

Podemos observar a composição corporal em relação ao conteúdo protéico e de gordura da carcaça nas figuras 8 e 9, respectivamente.

Em relação à quantidade de proteína (Fig.8), não houve alteração significativa. Porém, a gordura da carcaça (Fig.9) aumentou significativamente no grupo castrado sedentário (OS) em relação aos controles (CS e CT), o treinamento no grupo castrado (OT) impediu o este aumento.

Proteína

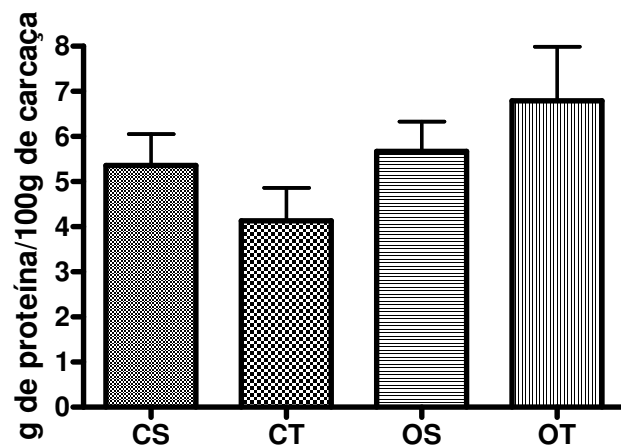


Figura 8– Conteúdo protéico da carcaça expresso como g de proteína / 100 g de peso da carcaça. Controle sedentária (CS, n= 7); controle treinada (CT, n=7); ovariectomizada sedentária (OS, n=9); ovariectomizada treinada (OT, n=7). Os valores são média $\pm$ EPM; n = número de ratos.

Gordura

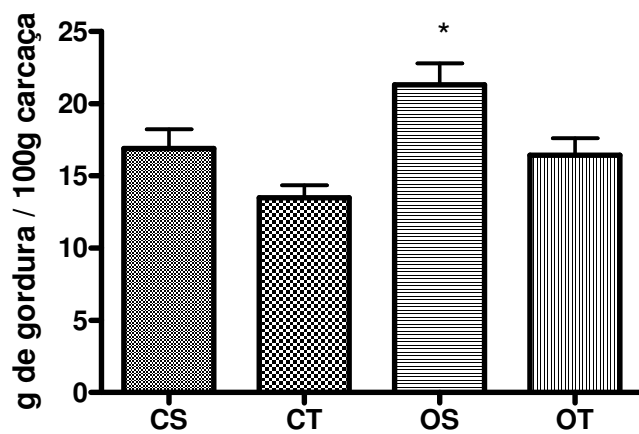


Figura 9– Percentual de gordura subcutânea expresso como g de gordura / 100g de carcaça. Controle sedentária (CS, n= 7); controle treinada (CT, n=7); ovariectomizada sedentária (OS, n=9); ovariectomizada treinada (OT, n=7). Os valores são média $\pm$ EPM * $p < 0,05$ vs CS, CT e OT; n = número de ratos.

3.2.2- COMPARTIMENTOS DE GORDURA

A análise dos pesos relativos dos 3 compartimentos de tecido adiposo (retroperitoneal, pélvico e inguinal) dos animais é mostrada nas figuras 10, 11 e 12, respectivamente.

A figura 10 mostra que houve diminuição significativa do peso relativo da gordura retroperitoneal no grupo controle que treinou (CT) em relação ao grupo controle sedentário (CS).

Gordura Retroperitoneal

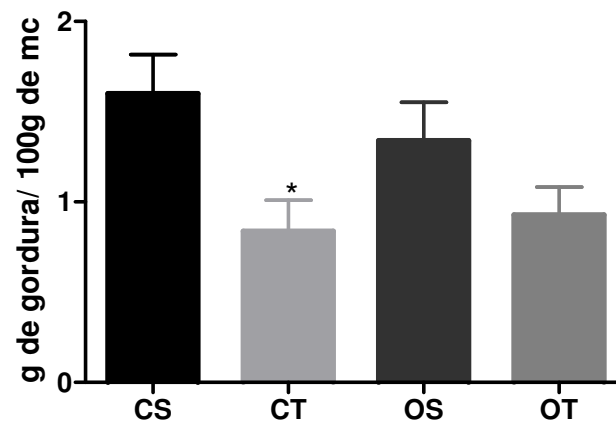


Figura 10- Peso relativo da gordura retroperitoneal expresso como peso do tecido (g)/ 100 g de massa corporal. Controle sedentária (CS, n= 12); controle treinada (CT, n=10); ovariectomizada treinada (OS, n=13); ovariectomizada treinada (OT, n=10). Os valores são média $\pm$ EPM * $p < 0,05$ vs CS; n = número de ratos.

Na figura 11 observamos que o treinamento no grupo castrado (OT) impediu o aumento da gordura pélvica provocado pela castração (OS).

Gordura Pélvica

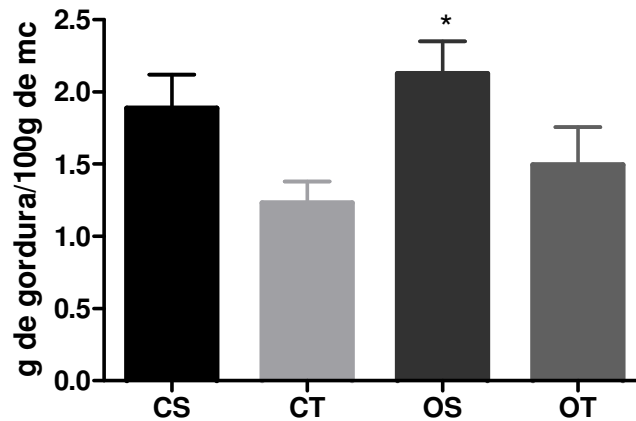


Figura 11- Peso relativo da gordura pélvica expresso como peso do tecido (g)/ 100 g de massa corporal. Controle sedentária (CS, n= 12); controle treinada (CT, n=10); ovariectomizada sedentária (OS, n=13); ovariectomizada treinada (OT, n=10). Os valores são média $\pm$ EPM * $p < 0,05$ vs OT; n = número de ratos.

Na figura 12 observamos um aumento significativo na gordura inguinal do grupo castrado sedentário (OS) em relação aos demais grupos.

Gordura Inguinal

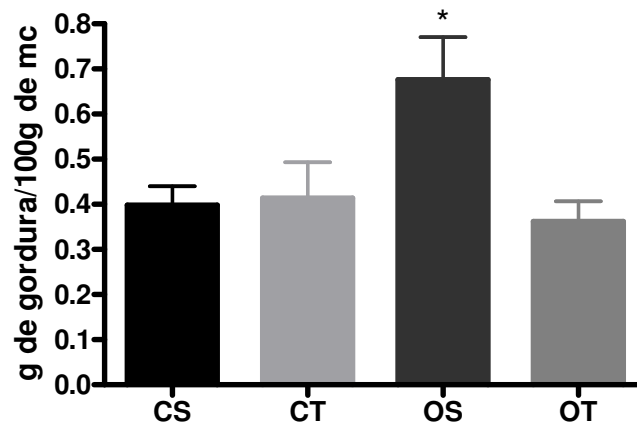


Figura 12- Peso relativo da gordura inguinal expresso como peso do tecido (g)/ 100 g de massa corporal. Controle sedentária (CS, n= 12); controle treinada (CT, n=10); ovariectomizada sedentária (OS, n=13); ovariectomizada treinada (OT, n=10). Os valores são média $\pm$ EPM * $p < 0,05$ vs CS, CT e OT; n = número de ratos.

3.3- PESO DOS TECIDOS

3.3.1- PESO DO ÚTERO

As ratas ovariectomizadas (OS e OT) apresentaram redução significativa do peso absoluto (Figura 13) e do peso relativo (Figura 14) do útero em relação aos outros dois grupos (CS e CT).

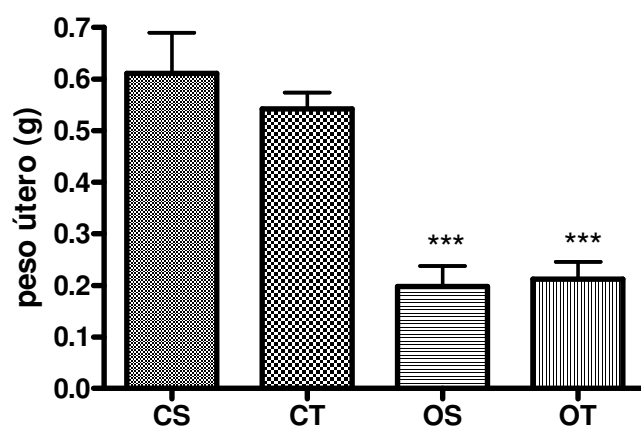


Figura 13– Peso absoluto do útero expresso em g. Controle sedentária (CS, n= 14); controle treinada (CT, n=14); ovariectomizada sedentária (OS, n=14); ovariectomizada treinada (OT, n=10). Os valores são média $\pm$ EPM *** $p < 0,001$ vs CS e CT; n = número de ratos.

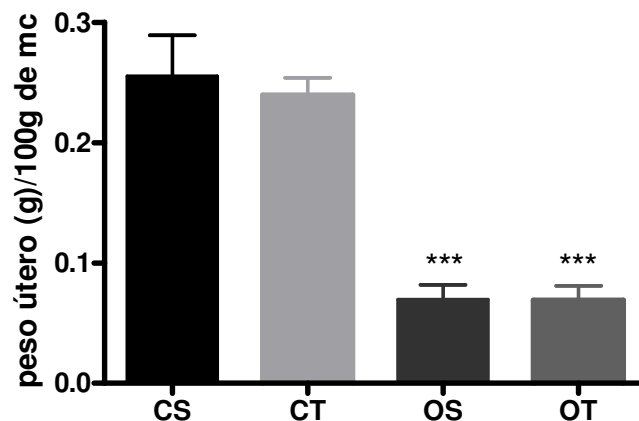


Figura 14– Peso relativo do útero expresso como peso do tecido (g)/ 100 g de massa corporal. Controle sedentária (CS, n= 14); controle treinada (CT, n=14); ovariectomizada sedentária (OS, n=14); ovariectomizada treinada (OT, n=10). Os valores são média $\pm$ EPM *** $p < 0,001$ vs CS e CT; n = número de ratos.

3.3.2- PESO DA TIREÓIDE

Já os pesos absoluto e relativo da tireóide não diferiram entre os grupos, como mostram as figuras 15 e 16, respectivamente. Em relação ao peso absoluto e relativo da hipófise (Figuras 17 e 18) vimos diferença significativa somente no peso relativo da hipófise do animal castrado treinado (OT) em relação ao castrado sedentário e controle treinado (OS e CT).

Peso Absoluto da Tireóide

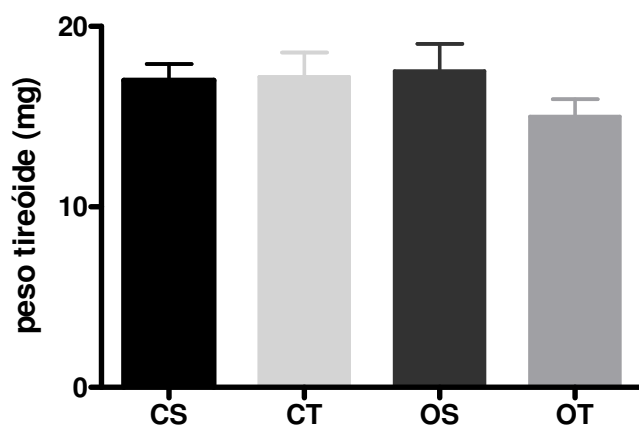


Figura 15- Peso absoluto da tireóide. Controle sedentária (CS, n= 16); controle treinada (CT, n=14); ovariectomizada sedentária (OS, n=17); ovariectomizada sedentária (OT, n=13). Os valores são média $\pm$ EPM; n = número de ratos.

Peso Relativo da Tireóide

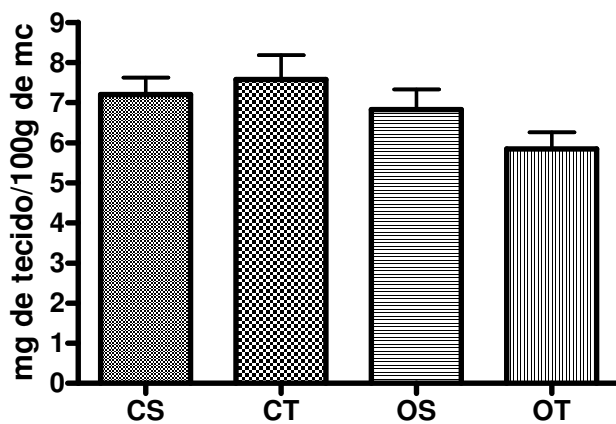


Figura 16 – Peso relativo da tireóide. Controle sedentária (CS, n= 16); controle treinada (CT, n=14); ovariectomizada sedentária (OS, n=17); ovariectomizada sedentária (OT, n=13). Os valores são média $\pm$ EPM; n = número de ratos.

3.3.3- PESO DA HIPÓFISE

Peso Absoluto da Hipófise

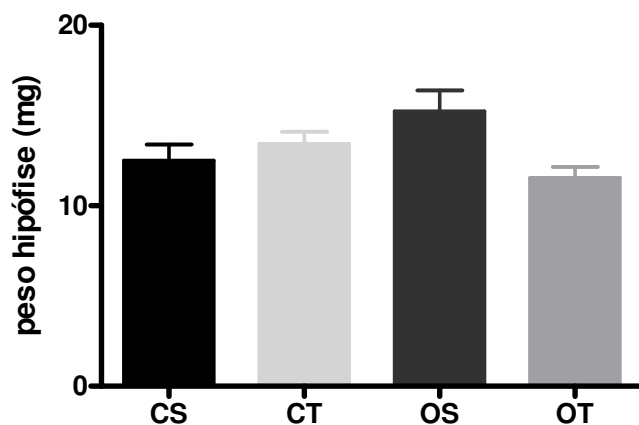


Figura 17- Peso absoluto da hipófise. Controle sedentária (CS, n= 16); controle treinada (CT, n=14); ovariectomizada sedentária (OS, n=17); ovariectomizada treinada (OT, n=13). Os valores são média $\pm$ EPM; n = número de ratos.

Peso Relativo da Hipófise

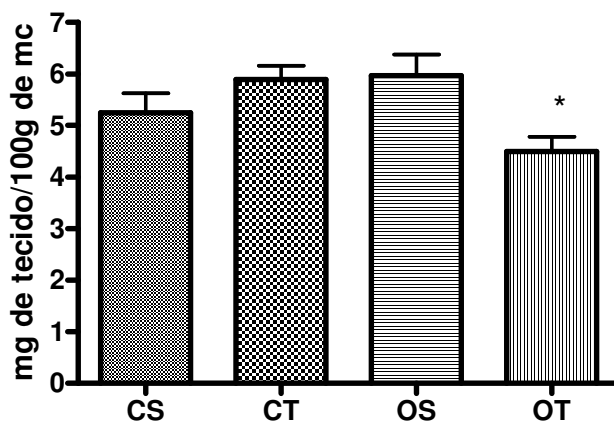


Figura 18- Peso relativo da hipófise. Controle sedentária (CS, n= 16); controle treinada (CT, n=14); ovariectomizada sedentária (OS, n=17); ovariectomizada treinada (OT, n=13). Os valores são média $\pm$ EPM* $p < 0,05$ vs CT e OS; n= número de ratos.

3.3.4- PESO DO TAM

O peso absoluto e relativo do tecido adiposo marrom (TAM) pode ser visto nas figuras 19 e 20, respectivamente. As ratas treinadas (CT e OT) tiveram um aumento significativo em relação às sedentárias (CS e OS).

Peso Absoluto do TAM

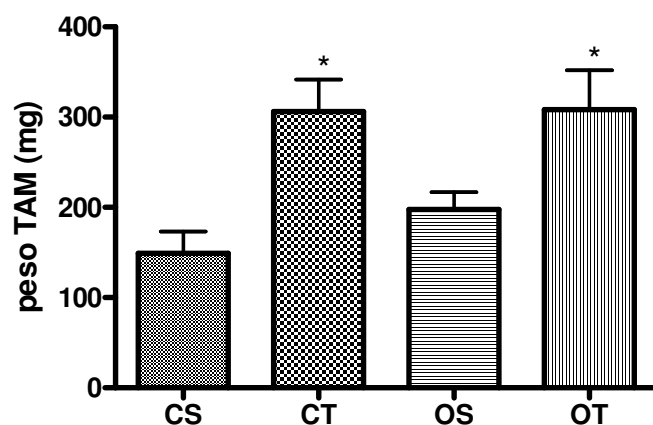


Figura 19 - Peso absoluto do TAM em mg. Controle sedentária (CS, n= 12); controle treinada (CT, n=10); ovariectomizada sedentária (OS, n=13); ovariectomizada treinada (OT, n=10). Os valores são média $\pm$ EPM * $p < 0,05$ vs CS e OS; n = número de ratos.

Peso Relativo do TAM

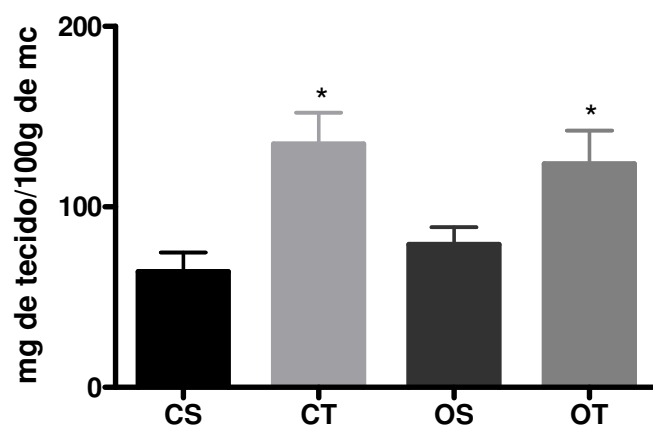


Figura 20 - Peso relativo do TAM expresso como peso do tecido (mg)/ 100 g de mc. Controle sedentária (CS, n= 12); controle treinada (CT, n=10); ovariectomizada sedentária (OS, n=13); ovariectomizada treinada (OT, n=10). Os valores são média $\pm$ EPM * $p < 0,05$ vs CS e OS; n = número de ratos.

3.4- CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE T_3 , T_4 e TSH

As concentrações totais séricas de T_3 , T_4 e TSH não alteraram significativamente com o protocolo de exercício nem com a ovariectomia. O que pode ser observado nas figuras 21, 22 e 23, respectivamente.

T₃ sérico total

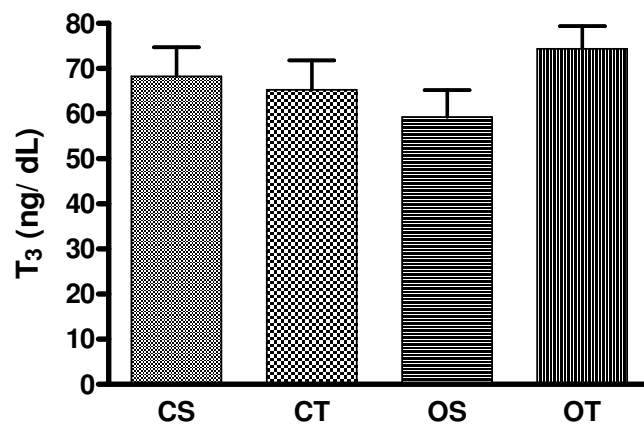


Figura 21- controle sedentária (CS, n= 12); controle treinada (CT, n=12); ovariectomizada sedentária (OS, n=12); ovariectomizada treinada (OT, n=13). Os valores são média $\pm$ EPM; n = número de ratos.

T₄ sérico total

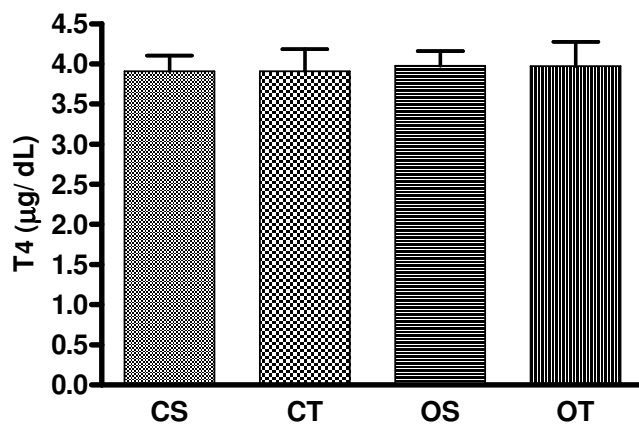


Figura 22- controle sedentária (CS, n= 12); controle treinada (CT, n=13); ovariectomizada sedentária (OS, n=12); ovariectomizada treinada (OT, n=13). Os valores são média $\pm$ EPM; n = número de ratos.

TSH

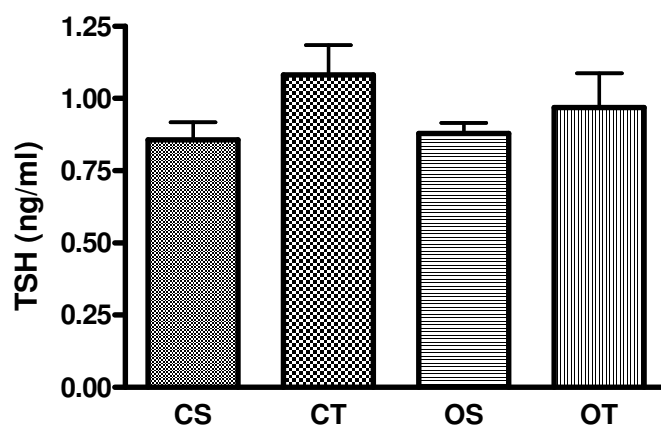


Figura 23- Controle sedentária (CS, n= 15); controle treinada (CT, n=12); ovariectomizada sedentária (OS, n=17); ovariectomizada treinada (OT, n=11). Os valores são média $\pm$ EPM; n = número de ratos.

3.5- ATIVIDADE DAS ENZIMAS DESIODASES TIPO 1 (D1) E TIPO 2(D2).

Analizamos as atividades da D1 em fígado, rim, tireóide e hipófise de todos os grupos de animais e a atividade da D2 em TAM e hipófise.

O treinamento e a ovariectomia não influenciaram a atividade da enzima D1 no fígado, no rim e na tireóide como mostrado nas figuras 24, 25 e 26, respectivamente. Porém, a atividade da D1 hipofisária (Figura 27) aumentou significativamente no grupo controle treinado (CT) em relação aos demais.

Atividade D1 no Fígado

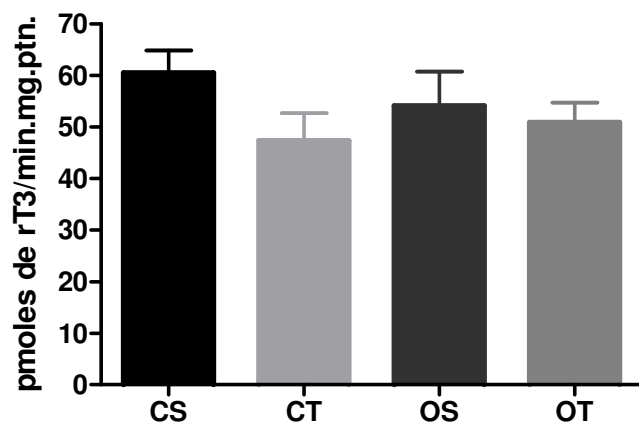


Figura 24- Atividade da D1 no fígado. Controle sedentária (CS, n= 11); controle treinada (CT, n=11); ovariectomizada sedentária (OS, n=13); ovariectomizada treinada (OT, n=10). Os valores são média $\pm$ EPM; n = número de ratos.

Atividade D1 no Rim

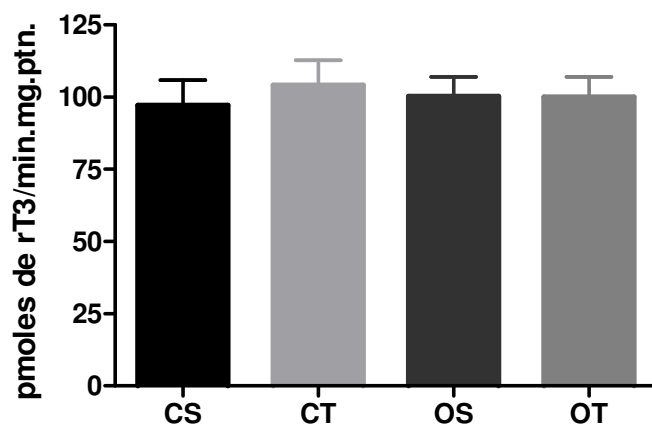


Figura 25- Atividade da D1 no rim. Controle sedentária (CS, n= 11); controle treinada (CT, n=11); ovariectomizada sedentária (OS, n=13); ovariectomizada treinada (OT, n=10). Os valores são média $\pm$ EPM; n = número de ratos.

Atividade D1 na Tireóide

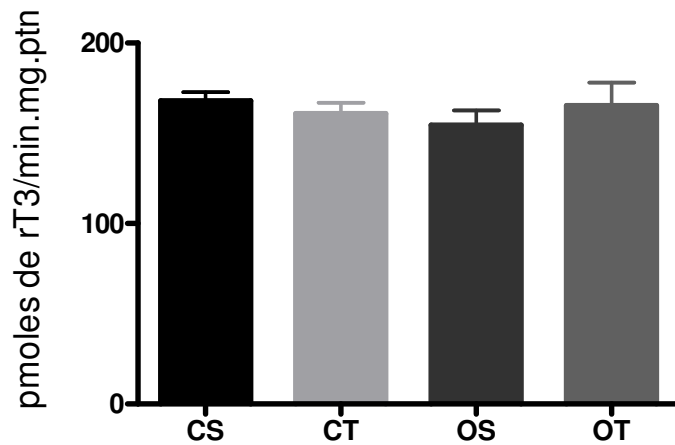


Figura 26- Atividade da D1 no tireóide. Controle sedentária (CS, n= 11); controle treinada (CT, n=11); ovariectomizada sedentária (OS, n=13); ovariectomizada treinada (OT, n=10). Os valores são média $\pm$ EPM; n = número de ratos.

Atividade D1 na Hipófise

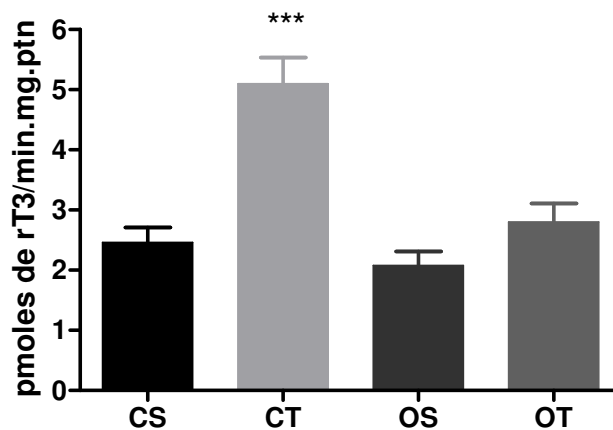


Figura 27- Atividade da D1 no hipófise. Controle sedentária (CS, n= 4); controle treinada (CT, n=4); ovariectomizada sedentária (OS, n=5); ovariectomizada treinada (OT, n=3). Os valores são média $\pm$ EPM * $p < 0,001$ vs CS, OS e OT; n = número de ratos.

Os valores das atividades da D2 encontram-se nas figuras 28 e 29. A atividade dessa enzima no TAM (Figura 28) aumentou no grupo controle treinado (CT) em relação aos grupos sedentários (CS e OS). Ao avaliarmos a atividade da D2 hipofisária (Figura 29) encontramos

diminuição significativa em ambos os grupos castrados (OS e OT) em relação ao controle sedentário (CS).

Atividade D2 no TAM

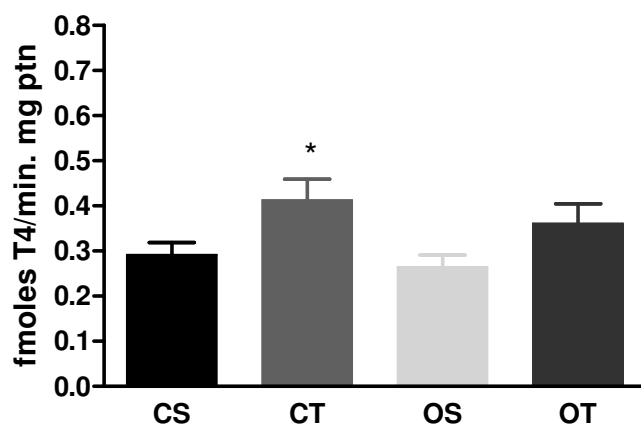


Figura 28 – Atividade da D2 no TAM. Controle sedentária (CS, n= 16); controle treinada (CT, n=12); ovariectomizada sedentária (OS, n=14); ovariectomizada treinada (OT, n=10). Os valores são média $\pm$ EPM * $p < 0,05$ vs CS e OS; n = número de ratos.

Atividade D2 na Hipófise

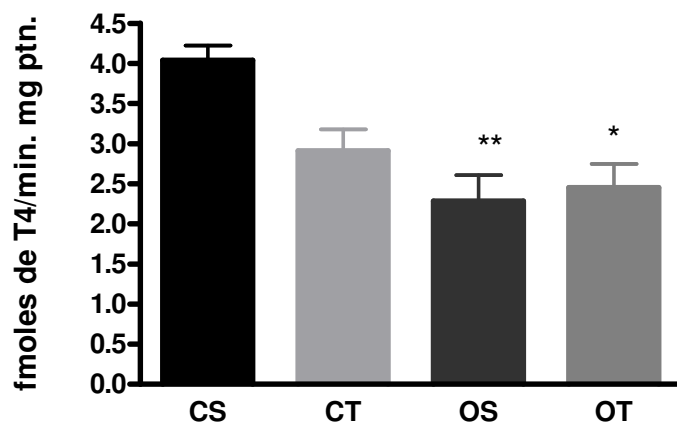


Figura 29- Atividade da D2 na hipófise. Controle sedentária (CS, n= 6); controle treinada (CT, n=11); ovariectomizada sedentária (OS, n=8); ovariectomizada treinada (OT, n=7). Os valores são média $\pm$ EPM * $p < 0,05$ vs CS e ** $p < 0,01$ vs CS; n = número de ratos.

4- DISCUSSÃO

Este estudo procurou mostrar a influência do exercício físico sobre o ganho de massa corporal e a função tireóidea de ratas castradas.

Nossos resultados mostraram que a diminuição de esteróides sexuais femininos provocada pela ovariectomia implica em um aumento substancial de massa corporal (Fig. 5). Já é bem descrito na literatura que esse aumento na massa corporal é acompanhado por um concomitante aumento na ingestão (Richard, 1986; Richard *et al*, 1987; Melton *et al*, 2000), como foi visto também no presente estudo (Fig. 6). Os mecanismos envolvidos no aumento da massa corporal e da ingestão alimentar precisam ser elucidados.

Estudos apontam como sendo o aumento da ingestão a causa do ganho de massa corporal nas ratas castradas (Galé e Sclafani, 1977; Richard, 1986), aumento na eficiência alimentar (Pedersen *et al*, 2001; Coscina e Chambers, 1991) ou decréscimo da atividade física (Shimomura *et al*, 1990). Em nosso estudo, além da ingestão significativamente aumentada nos animais castrados houve também aumento significativo da eficiência alimentar nos grupos ovariectomizados (Fig. 7).

No trabalho de Marassi *et al* (2007) ficou evidenciado que as ratas castradas tratadas com estrogênio tiveram um ganho de massa corporal menor que o dos animais controle. Esse resultado corrobora Kimura *et al* (2002) e Meli *et al* (2004) que sugerem um efeito

lipolítico do estrogênio, no entanto, no presente estudo não objetivamos analisar os efeitos de reposição com estrogênio.

O estrogênio parece ter uma ação central, inibindo o neuropeptídeo Y e conseqüentemente a ingestão (Meli *et al*, 2004).

Segundo Kimura *et al* (2002), a expressão dos receptores de leptina, hormônio que regula a ingestão, estão diminuídos em fêmeas castradas, apesar da concentração plasmática de leptina permanecer inalterada nos ratos que tiveram a massa corporal aumentada induzida pela ovariectomia. Estes autores sugerem que os receptores de leptina no hipotálamo são afetados pelos níveis de estrogênio, já que os receptores tiveram sua expressão diminuída na ausência de estrogênio e aumentada com a administração de estrogênio. Como já dito acima, os receptores de leptina estão presentes principalmente no hipotálamo e transmitem sinais ao sistema nervoso central para controlar a ingestão (Stephens *et al*, 1995). Assim, a diminuição da expressão desses receptores pode transmitir sinais que dificultam a supressão da ingestão, levando ao ganho de massa corporal. (Kimura, 2002). No nosso estudo as ratas castradas tiveram aumento significativo da ingestão.

No nosso estudo o peso relativo e absoluto do útero das fêmeas castradas está significativamente menor (Figuras 13 e 14), indicando fortemente que os níveis de estrogênio estejam baixos. Porém, não avaliamos a concentração plasmática de estrogênio, leptina e a expressão de seus receptores.

O treinamento de natação é frequentemente empregado em laboratório para expor roedores ao estresse do exercício e aumentar o gasto calórico dos animais (McArdle, 1967). Assim, aumentar o gasto energético total através de um exercício crônico de intensidade moderada poderia ser efetivo na redução ou prevenção do ganho de massa corporal (Melton, 2000).

Neste estudo, vimos que ambos os grupos de ratas ovariectomizadas tiveram aumento significativo de massa corporal comparadas a ambos os grupos controles (Fig. 5). Isso indica que o treinamento físico aplicado não foi capaz de impedir o sobrepeso dos animais castrados.

Alguns estudos mostram que o ganho de massa corporal se dá através do aumento do tecido adiposo das ratas ovariectomizadas (Hervey e Hervey, 1981; Miller *et al*, 1994). Já Richard (1986) e Richard *et al* (1987), constataram como sendo às custas de proteína o aumento de massa corporal provocado pela ovariectomia e sugerem que isso pode acontecer principalmente quando os animais são tratados por um período de tempo maior (5 semanas). O conteúdo protéico foi analisado pelo método da carcaça e não foi vista alteração significativa (Fig. 8), ao contrário do que mostrou Richard (1986) e Richard *et al* (1987), isso pode ter acontecido devido aos diferentes protocolos utilizados.

Analisamos 4 compartimentos diferentes de gordura: o da carcaça, retroperitoneal, pélvica e inguinal. Observamos que o grupo ovariectomizado sedentário teve aumento significativo de gordura da carcaça e inguinal (Figuras 9 e 12), mostrando uma modulação destes

compartimentos de gordura pelos hormônios ovarianos, porém o treinamento impediu este aumento, já que não houve alteração neste tecido em ambos os grupos que treinaram.

O treinamento foi capaz de impedir o aumento da gordura pélvica no grupo treinado castrado (Fig. 11), mostrando uma modulação desse compartimento de gordura pelo treinamento, diminuição esta não dependente da função gonadal intacta.

Os pesos absolutos da tireóide e da hipófise não se alteraram (Figuras 15 e 17), corroborando os dados de Marassi *et al* (2007). Furlanetto *et al* (1999) viram aumento na proliferação de células FRTL-5 depois de exposição ao estradiol, entretanto no estudo de Marassi *et al* (2007) *in vivo* não houve mudanças no peso da tireóide entre os grupos de fêmeas adultas. Esses dados com 21 dias de ovariectomia e os nossos com 63 dias estão em desacordo com os estudos de Banu *et al* (2001) que viram diminuição no peso absoluto da tireóide com 60 dias de ovariectomia.

A resposta encontrada em decorrência de um protocolo de exercício depende da intensidade, duração e do tipo do exercício. Assim, os resultados encontrados na literatura são bastante controversos e muitas vezes não comparáveis.

Neste trabalho não foi feita medida direta de oxigênio dos animais, porém o consumo de oxigênio de ratos que nadam sem carga adicional foi previamente descrito como sendo de 2-7 vezes maior que o consumo de oxigênio no estado basal (McArdle, 1967), o que é

considerado um exercício de intensidade moderada para ratos (Baker e Horvath, 1964).

Apesar dessa intensidade de treinamento reduzir a gordura corporal (Melton *et al*, 2000), os níveis plasmáticos dos hormônios tireóideos não sofreram alterações no presente estudo (Figuras 21-23).

Em relação à ovariectomia, os níveis plasmáticos de T_4 também não se alteraram (Fig. 22), como descrito por Marassi *et al* (2007) e Lima *et al*, 2006; porém, nestes estudos os níveis de T_3 diminuíram nas ratas ovariectomizadas, o que não ocorreu no nosso trabalho (Fig. 20), provavelmente devido à adaptação do eixo hipófise-tireóide na castração de mais longo prazo.

Neste estudo, os níveis de T_3 , T_4 e TSH estão normais, correspondendo com a atividade inalterada da D1 no fígado, rim e na tireóide (Figuras 24-26).

Existem poucos estudos mostrando a atividade da D1 no exercício físico. Nós observamos aumento significativo da D1 na hipófise do grupo controle treinado (Fig. 27), o que corrobora o estudo de Fortunato *et al* (2008), em que a atividade D1 hipofisária aumentou com uma sessão de exercício agudo. Como a maior parte da hipófise corresponde ao somatotrofo, esse aumento pode ter ocorrido pela indução da D1 pelo exercício físico nesse tipo celular, porém esse aumento de atividade da D1 não ocorreu da mesma forma no grupo ovariectomizado, mostrando que a ausência de esteróides sexuais pode ter influenciado esse aumento. O treinamento parece exercer algum efeito modulatório na hipófise que parece ser dependente da função gonadal. É interessante notar que a

atividade D2 hipofisária parece também depender da função gonadal, já que observamos diminuição significativa em ambos os grupos castrados (Fig. 29) e essa diminuição não teve relação com os níveis séricos de TSH, que não se alteraram significativamente, indicando que essas alterações também possam ocorrer em outro tipo celular que não os tireotrofos. Porém, mais estudos são necessários para elucidar esses mecanismos.

As catecolaminas, cuja secreção aumenta com o exercício, estimulam a atividade da D2 no TAM (Obregon *et al*, 1987). A D2 do TAM desempenha um papel importante na conversão de T_4 a T_3 da mesma forma que a D1 hepática (Bianco *et al*, 2002). A atividade aumentada desta enzima no TAM (Fig. 28) mostra a existência de um estímulo adrenérgico crônico provavelmente causado pelo exercício físico, além disso o peso deste tecido também se mostrou significativamente maior nos animais treinados.

Alguns estudos mostram diminuição da atividade da D2 no TAM de ratos que foram submetidos ao exercício (Larue-Achagiotis *et al*, 1995; Sullo *et al*, 2003; Fortunato *et al*, 2008) e a termogênese no TAM inalterada em ratas ovariectomizadas com e sem a reposição de estrogênio (Richard *et al*, 1987), indicando que a termogênese no TAM não contribui para o balanço energético positivo destes animais (Richard, 1986; Richard *et al*, 1987).

Porém, segundo Richard *et al* (1987), aumentos na termogênese no TAM acontecem em animais submetidos ao exercício de natação, já que esse tipo de exercício tem se mostrado eficiente em promover adaptações

específicas como as que acontecem em animais expostos ao frio, a menos que a água esteja numa temperatura alta (38° C) ou os animais sejam enxugados rapidamente ao final da atividade. Neste trabalho, os animais eram enxugados assim que saíam da água e a temperatura da água foi mantida termoneutra, entre 31 e 34° C. No entanto, houve aumento de D2 nos animais treinados, sugerindo haver resposta adaptativa seja ao exercício físico *per se* ou relacionada à exposição à baixa temperatura durante o treinamento.

5- CONCLUSÕES

- O treinamento físico não aboliu o ganho de massa corporal gerado pela castração.
- O treinamento físico foi capaz de impedir em parte o ganho de gordura corporal, sem alterações na ingestão alimentar.
- A função tireóidea está normal após 8 semanas de castração e as fêmeas castradas mantêm massa corporal aumentada, indicando que a diminuição da função tireóidea não estaria relacionada à maior massa corporal.
- As atividades desidrases tipo 1 na tireóide, fígado e rim não se alteram a longo prazo de castração ou com o treinamento por 8 semanas, o que está de acordo com os níveis séricos normais de T_4 e T_3 .
- A desidrase tipo 2 hipofisária está diminuída em animais castrados, sem relação com os níveis séricos de TSH, sugerindo que esta diminuição não esteja ocorrendo nos tireotrofos.
- O treinamento de ratas controle aumenta significativamente a atividade desidrase tipo 1 na hipófise e tipo 2 no tecido adiposo marrom, efeitos estes abolidos pela castração.

6 - REFERÊNCIAS

AMERICAN COLLEGE OF SPORTS MEDICINE (ACSM). Diretrizes do ACSM para os Testes de Esforço e sua Prescrição. 6ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 2003.

ANDRE J, MARCHISIO A. M, MOREL Y, COLLU R. Dopamine receptors in the rat pituitary and the transplantable, pituitary tumor MfTF4: effect of chronic treatment with oestradiol. *Biochemical and Biophysical Research communications* 106: 229-235. 1982.

ARDEVOL A, ADAN C, REMESAR X, FERNANDEZ-LOPEZ J, ALEMANY M. Hind leg heat balance in obese Zucker rats during exercise. *Pflügers arch* 435: 454-464, 1998.

BAKER MA and HORVATH SM. Influence of water temperature on oxygen uptake by swimming rats. *J. Appl. Physiol.* 19(6): 1215- 1218. 1964.

BANU SK, AROSH JA, GOVINDARAJULU P, ARULDHAS MM. Testosterone and estradiol differentially regulate thyroid growth in Wistar rats from immature to adult age. *Endocr Res.* Nov;27(4):447-63, 2001.

BERRY MJ, KIEFFER JD, HARNEY JW, LARSEN PR. Selenocysteine confers the biochemical properties characteristic of the type I iodothyronine deiodinase. *J Biol Chem.* Aug 5;266(22):14155-8, 1991.

BIANCO A C, SALVATORE D, GEREKEN B, BERRY M J, LARSEN P R. Biochemistry, cellular and molecular biology, and physiological roles of the iodothyronine selenodeiodinases. *Endocrine Reviews*, 23(1): 38-89, 2002.

BIANCO A C and LARSEN P R. Cellular and structural biology of the deiodinases. *Thyroid.* Aug;15(8):777-86. Review, 2005.

BÖTTNER M and WUTTKE W. Chronic treatment with low doses of estradiol affects pituitary and thyroid function in young and middle-aged ovariectomized rats. *Biogerontology* 6: 261-269, 2005.

BRADFORD MM A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of proteins utilizing the protein-dye binding. *Anal Biochem.* 72: 248-252, 1976.

BROOKS G. A; FAHEY T. D; BALDWIN K. M. *Exercise Physiology Human Bioenergetics and its applications*, ed. Mc Graw Hill, 4th edition, 2005.

BULUN SE, ADASHI EY. The physiology and pathology of the female reproductive axis. *In* Wilson, J.D. & Foster, D.W. (editores) *Williams Textbook of Endocrinology*. (10^a ed.). W.B. Saunders Company, Philadelphia, cap. 16, 2003.

CHRISTIANSON D, ROTI E, VAGENAKIS AG & BRAVERMAN LE. The sex-related difference in serum thyrotropin concentration is androgen mediated. *Endocrinology* 108 529–535, 1981.

CILOGLU F, PEKER I, PEHLIVAN A, KARACABEY K, IHAN N, SAYGIN O, OZMERDIVENLI R. Exercise intensity and its effects on thyroid hormones. *Neuro Endocrinol Lett.* Dec;26(6):830-4, 2005.

COLLIER G and HIRSCH E. Reinforcing properties of spontaneous activity in the rat. *J Comp Physiol Psychol* **77**:155–160, 1971.

COLVIN G and SAWYER C. Induction of running activity by intracerebral implants of estrogen in ovariectomized rats. *Neuroendocrinology* 4:309-320, 1969.

COSCINA DV and CHAMBERS JW. Serotonin-depleting midbrain lesions do not prevent ovariectomy-induced weight gain. *Physiol Behav.* Nov;50(5):1051-6, 1991.

DELLOVADE TL, ZHU YS, KREY L, PFAFF DW. Thyroid hormone and estrogen interact to regulate behavior. *Proc Natl Acad Sci U S A.* Oct . 1996.

DONDA A, REYMOND F, REY F, LEMARCHAND-BÉRAUD T. Sex steroids modulate the pituitary parameters involved in the regulation of TSH secretion in the rat. *Acta Endocrinol (Copenh).* May;122(5):577-84, 1990.

EUDY J D, YAO, S, WESTON M D, MA-EDMONDS M., TALMADGE CB, CHENG JJ, KIMBERLING WJ & SUMEGI J. Isolation of a gene encoding a novel member of the nuclear receptor superfamily from the critical region of Usher syndrome type IIa at 1q41. *Genomics.* Jun 15;50(3):382-4, 1998.

FISHER CR, GRAVES KH, PARLOW AF, SIMPSON ER. Characterization of mice deficient in aromatase (ArKO) because of targeted disruption of the cyp19 gene. *Proc Natl Acad Sci U S A.* Jun 9;95(12):6965, 1998.

FORTUNATO RS, IGNACIO DL, PADRON AS, RIBEIRO R, MARASSI M, ROSENTHAL D, WERNECK-DE-CASTRO JP, Carvalho, DP. The effect of acute exercise session on thyroid hormone economy in rats. *J Endocrinol*, 2008

FRANKLYN J, BETERRIDGE J, HOLDER R, DAYKIN J, LILLEY J, SHEPPARD M. Bone mineral density in thyroxine treated females with or without a previous history of thyrotoxicosis. *Clin Endocrinol (Oxf).* Oct;41(4):425-32, 1994.

FUJIMOTO J, HORI M, ICHIGO S, NISHIGAKI M, ITOH T, TAMAYA T. Expression of aberrant estrogen receptor mRNA in endometrial cancers in comparison with normal endometria. *Horm Res*; 42(3):116-9, 1994.

FUJIMOTO N, JINNO N, KITAMURA S. Activation of estrogen response element dependent transcription by thyroid hormone with increase in estrogen receptor levels in a rat pituitary cell line, GH3. *J Endocrinology.* Apr; 181(1):77-83, 2004.

FURLANETTO TW, Nguyen LQ, Jameson JL. Estradiol increases proliferation and down-regulates the sodium/iodide symporter gene in FRTL-5 cells. *Endocrinology*. Dec;140(12):5705-11, 1999.

GALÉ SK and SCLAFANI A. Comparison of ovarian and hypothalamic obesity syndromes in the female rat: effects of diet palatability on food intake and body weight. *J Comp Physiol Psychol*. Apr;91(2):381-92, 1977.

GARLID KD, JABUREK M, JEZEK P. The mechanism of proton transport mediated by mitochondrial uncoupling proteins. *FEBS Lett*. Oct 30;438(1-2):10-4. Review, 1998.

GAWEL MJ, PARK DM, ALAGBAND-ZADEH J, ROSE FC. Exercise and hormonal secretion. *Postgrad Med J*; 55:373-6, 1979.

HARRIS ARC, VAGENAKIS AG & BRAVERMAN LE. Sex-related differences in outer ring monodeiodination of thyroxine and 3, 3', 5' triiodothyronine by rat liver homogenates. *Endocrinology* 104 645–652, 1979.

HEINE PA., TAYLOR JA., IWAMOTO G A., LUBAHN DB., and COOKE PS. Increased adipose tissue in male and female estrogen receptor α knockout mice *PNAS*, 2000.

HERVEY E and HERVEY GR. The influence of sex hormones on energy balance. In: *The body weight regulatory System: Normal and Distributed Mechanisms*, edited by L. a. Cioffi, W. P. T. James, and T. B. Van Itallie. New York: Raven, p. 345-352, 1981.

HIASA Y, KITAHORI Y, YANE K, NISHIOKA H, NAKAHASHI K, KONISHI N, OHSHIMA M, OKAICHI K, OHNISHI T, LIN JC. Establishment of estrogen receptor-positive transplantable rat thyroid tumor cell lines in vivo. *Cancer Res*. Sep 15;53(18):4408-12, 1993.

HIMMS-HAGEN J. Thermogenesis in brown adipose tissue as an energy buffer. Implications for obesity. *N Engl J Med*. Dec 13;311(24):1549-58. Review, 1984.

ICHIDA M., NEMOTO S, FINKEL T. Identification of a specific molecular repressor of the peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator-1 α (PGC α). *J. Biol. Chem*. 277:50991–50995, 2002.

JAMES W. Epidemiology of obesity. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2S:23S-26S, 1992.

JÉQUIER E and FELBER JP. Indirect calorimetry. *Baillieres Clin Endocrinol Metab*. Nov;1(4):911-35. Review, 1987.

JONES M. E., THORBURN A. W., BRITT K. L., HEWITT K. N., WREFORD N. G., PROIETTO J., OZ O. K., LEURY B. J., ROBERTSON K. M., YAO S., and SIMPSON E. R.. Aromatase-deficient (ArKO) mice have a phenotype of increased adiposity *PNAS*, 2000.

JONES M.E., MCINNES K.J., BOON W.C., SIMPSON E.R. Estrogen and adiposity-Utilizing models of aromatase deficiency to explore the relationship Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology, 2007.

JOSEPH R, HESS S, BIRECREE E. Effects of hormone manipulations and exploration on sex differences in maze learning. Behav Biol 24:364–377, 1978.

KAMEI Y, OHIZUMI H, FUJITANI Y, NEMOTO T, TANAKA T, TAKAHASHI N, KAWADA T, MIYOSHI M, EZAKI O and KAKIZUKA A. PPAR γ coactivator 1 β /ERR ligand 1 is an ERR protein ligand, whose expression induces a high-energy expenditure and antagonizes obesity. Proc Natl Acad Sci. Oct 14;100(21):12378-83, 2003.

KATZEFF HL and SELGRAD C. Maintenance of thyroid hormone production during exercise-induced weight loss. Am J Physiol. Sep;261(3 Pt 1):E382-8, 1991.

KAWABATA W, SUZUKI T, MORIYA T, FUJIMORI K, NAGANUMA H, INOUE S, KINOUCHI Y, KAMEYAMA K, TAKAMI H, SHIMOSEGAWA T, SASANO H. Estrogen receptors (α and β) and 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 and 2 in thyroid disorders: possible in situ estrogen synthesis and actions. Mod Pathol. May;16(5):437-44, 2003.

KENDALL B and ESTON R. Exercise-induced muscle damage and the potential protective role of estrogen. Sports Med. 32(2):103-23, 2002.

KIMURA M, IRAHARA M, YASUI T, SAITO S, TEZUKA M, YAMANO S, KAMADA M & AONO T. The obesity in bilateral ovariectomized rats is related to a decrease in the expression of leptin receptors in the brain. Biochemical and Biophysical Research Communications 290 1349–1353, 2002.

KNECHTLE B and BIRCHER S. Changes in body composition during an extreme endurance run. Praxis; Mar 9;94(10):371-7, 2005.

KÖHRLE J. Thyroid hormone deiodinases--a selenoenzyme family acting as gate keepers to thyroid hormone action. Acta Med Austriaca; 23(1-2):17-30, 1996.

KÖHRLE J. Local activation and inactivation of thyroid hormones: the deiodinase family. Mol Cell Endocrinol. May 25;151(1-2):103-19. Review, 1999.

KUIPER GG, Carlsson B, Grandien K, Enmark E, Häggblad J, Nilsson S, Gustafsson JA. Comparison of the ligand binding specificity and transcript tissue distribution of estrogen receptors α and β . Endocrinology. Mar;138(3):863-70, 1997.

LARUE-ACHAGIOTIS C, RIETH N, GOUBERN M, LAURY M.C, LOUIS-SYLVESTRE J. Exercise-training reduces BAT thermogenesis in rats. Physiol Behav. May;57(5):1013-7, 1995.

LATOUR Metabolic effects of physical training in ovariectomized and hyperestrogenic rats. J Appl Physiol. Jan; 90(1):235-41, 2001.

LEHMAN M, PETERSEN KG, LIU Y, GASTMANN U, LORMES W, STEINACKER JM. Chronic exhaustive exercise in sports- Influence of leptin and inhibin. *Dtsch Z Sportmed* 51: 234-243, 2000.

LESHNER AI, LITWIN VA, SQUIBB RL. A simple method for carcass analysis. *Physiol Behav.* Aug;9(2):281-2, 1972.

LEVIN E.R. Integration of the extra-nuclear and nuclear actions of estrogen. *Mol. Endocrinol.* 19: 1951-1959, 2005.

LEVINE JA, EBERHARDT NL, JENSEN MD. Role of nonexercise activity thermogenesis in resistance to fat gain in humans. *Science.* Jan 8;283(5399):212-4, 1999.

LEVINE JA Non-exercise activity thermogenesis. *Proc Nutr Soc.* Aug;62(3):667-79. Review, 2003.

LIMA LP, BARROS IA, LISBOA PC, ARAUJO RL, SILVA AC, ROSENTHAL D, FERREIRA AC, CARVALHO DP. Estrogen effects on thyroid iodide uptake and thyroperoxidase activity in normal and ovariectomized rats. *Steroids* 71, 653–659, 2006.

LISBÔA PC, CURTY FH, MOREIRA RM, PAZOS-MOURA CC. Effects of estradiol benzoate on 5'-iodothyronine deiodinase activities in female rat anterior pituitary gland, liver and thyroid gland. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 30 1479–1484, 1997.

LISBÔA PC, CURTY FH, MOREIRA RM, OLIVEIRA KJ, PAZOS-MOURA CC Sex steroids modulate rat anterior pituitary and liver iodothyronine deiodinase activities. *Hormone and Metabolic Research* 33 532–535, 2001.

LOUCKS AB, CALLISTER R. Induction and prevention of low- T_3 syndrome in exercising women. *Am J Physiol* 264: R924-R930, 1993.

LOUCKS AB, HEATH EM. Induction of low- T_3 syndrome in exercising women occurs at a threshold of energy availability. *Am J Physiol* 266: R817-R823, 1994.

LOWRY OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem.* Nov;193(1):265-75, 1951.

LUO J, SLADEK R, CARRIER J, BADER JA, RICHARD D, GUIGUÈRE V. Reduced fat mass in mice lacking orphan nuclear receptor estrogen-related receptor α . *Mol Cell Biol* 23: 7947:7956, 2003.

MAIA AL, KIEFFER JD, HARNEY JW, LARSEN PR. Effect of 3,5,3'-Triiodothyronine (T_3) administration on *dio1* gene expression and T_3 metabolism in normal and type 1 deiodinase-deficient mice. *Endocrinology.* Nov;136(11):4842-9, 1995.

MANGELSDORF D. J, THUMMEL C., BEATO M., HERRLICH P., SCHÜTZ G, UMESONO K, BLUMBERG B, KASTNER P, MARK M, CHAMBON P, EVANS RM. The nuclear receptor superfamily: the second decade. *Cell. Dec 15;83(6):835-9.* Review, 1995.

MARASSI M. P., FORTUNATO R.S., MATOS DA SILVA A.C., PEREIRA V.S., CARVALHO D. P., ROSENTHAL D., CORRÊA DA COSTA V.M. Sexual dimorphism in thyroid function and type 1 iodothyronine deiodinase activity in pre-pubertal and adult rats. *Journal of Endocrinology* 192, 121-130, 2007.

MASTORAKOS G, PAVLATOU M, DIAMANTI-KANDARAKIS E, CHROUSOS GP. Exercise and the stress system. *Hormones* 4(2):73-89, 2005.

MCARDLE W.D. Metabolic stress of endurance swimming in the laboratory rat. *J. Appl. Physiol.* 22(I): 50-54. 1967.

MCKENZIE RM, and ZACARIJA M. In: *Endocrinology*, DEGROOT LJ (ed.) 3rd ed, chap. 4. *Proc Natl Acad. Sci. USA* 93, 1995.

MELI R, PACILIO M, RASO GM, ESPOSITO E, COPPOLA A, NASTI A, CARLO CD, NAPPI C, CARLO RD . Estrogen and raloxifene modulate leptin and its receptor in hypothalamus and adipose tissue from ovariectomized rats. *Endocrinology* 145 3115–3121, 2004.

MELTON SA, HEGSTED M, KEENAN MJ, ZHANG Y, MORRIS S, POTTER BULOT L, O'NEIL CE, MORRIS GS. Swimming eliminates the weight gain and abdominal fat associated with ovariectomy in the retired breeder rat despite high-fat diet selection. *Appetite.* Aug;35(1):1-7. 2000.

MICHALAKI M, VAGENAKIS AG, MAKRI M, KALFARENTZOS F, KYRIAZOPOULOU V. Dissociation of the early decline in serum T₃ concentration and serum IL-6 rise and TNF α in nonthyroidal illness syndrome induced by abdominal surgery. *J Clin Endocrinol Metab* 86: 4198-4205, 2001.

MILLER G.D, DIMOND A.G., STERN, J.S. Exercise reduces fat selection in female Sprague-Dawley rats. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 26, 1466-1472, 1994.

MIYASHITA K, MURAKAMI M, IRIUCHIJIMA T, TAKEUCHI T, MORI M. Regulation of rat type I iodothyronine deiodinase mRNA levels by testosterone. *Molecular and Cellular Endocrinology* 115 161–167, 1995.

MOSKOWITZ RW. Running-wheel activity in the white rat as a function of combined food and water deprivation. *J Comp Physiol Psychol.* Oct;52:621-5, 1959.

MUSATOV S, CHEN W, PFAFF DW, MOBBS CV, YANG XJ, CLEGG DJ, KAPLITT MG, OGAWA S. Silencing of estrogen receptor α in the ventromedial nucleus of hypothalamus leads to metabolic syndrome. *Proc Natl Acad Sci (PNAS)*, 2007.

NEDERGAARD J and LINBERG O. Norepinephrine-stimulated fatty-acid release and oxygen consumption in isolated hamster brown-fat cells. Influence of buffers, albumin, insulin and mitochondrial inhibitors. *Eur J Biochem.* Mar 15;95(1):139-45, 1979.

OBREGON M.J., MILLS I., SILVA J.E., LARSEN P.R. Catecholamine stimulation of iodothyronine 5'-deiodinase activity in rat dispersed brown adipocytes. *Endocrinology.* Mar;120(3):1069-72, 1987.

OERTEL M, GROSS M, ROKOS H, KÖHRLE J. Selenium-dependent regulation of type I 5'-deiodinase expression. *Am J Clin Nutr.* Feb;57(2 Suppl):313S-314S, 1993.

OPPENHEIMER JH, SCHWARTZ HL, MARIASH CN, KAINLAW WB, WONG NCW, and FREAKE HC. Advances in our understanding of thyroid hormone action at the cellular level, 1987. *Endocr Rev* 8: 288-308, 1987.

ORTIGA-CARVALHO TM, Polak J, McCann S, Pazos-Moura CC. Effect of thyroid hormones on pituitary neuromedin B and possible interaction between thyroid hormones and neuromedin B on thyrotropin secretion. *Regul Pept.* Nov 14;67(1):47-53, 1996.

PEDERSEN SB, BRUUN JM, KRISTENSEN K, RICHELSEN B. Regulation of UCP1, UCP2, and UCP3 mRNA Expression in Brown Adipose Tissue, White Adipose Tissue, and Skeletal Muscle in Rats by Estrogen Biochemical and Biophysical Research Communications, Volume 288, Issue1, Pages191-197, 2001.

REFSUM HE and STRÖMME SB. Serum thyroxine, triiodothyronine and thyroid stimulating hormone after prolonged heavy exercise. *Scand J Clin Invest*; 39:455-9, 1979.

RICHARD D. *Am. J Physiol.* Effects of ovarian hormones on energy balance and brown adipose tissue thermogenesis, 1986.

RICHARD D, ROCHON L., DESHAIES Y. *Am J Physiol.* Effects of exercise training on energy balance of ovariectomized rats, 1987.

SALLIS JF and HOVELL MF. Determinants of exercise behavior. *Exerc Sport Sci Rev*;18:307-30. Review, 1990.

SALVATORE D, HARNEY JW, LARSEN PR. Type 2 iodothyronine deiodinase is highly expressed in human thyroid. *Journal of Clinical Investigation.* 98(4):962-8.

SANCHEZ-MATEOS S, ALONSO-GONZALEZ C, GONZALEZ A, MARTINEZ-CAMPA CM, MEDIAVILLA MD, COS S, SANCHEZ-BARCELO EJ. Melatonin and estradiol effects on food intake, body weight, and leptin in ovariectomized rats. *Maturitas.* Sep 20;58(1):91-101, 2007.

SCHMID P, WOLF W, PILGER E, SCHWABERGER G, PESSENHOFER H, PRISTAUTZ H, LEB G. TSH, T_3 , r T_3 and f T_4 in maximal and submaximal physical exercise Eur J Appl Physiol Occup Physiol. 48(1):31-9, 1982.

SCOTT RE, WU-PENG XS, YEN PM, CHIN WW, PFAFF DW. Interactions of estrogen- and thyroid hormone receptors on a progesterone receptor estrogen response element (ERE) sequence: a comparison with the vitellogenin A2 consensus ERE. Mol Endocrinol. Oct;11(11):1581-92, 1997.

SHIMOMURA Y, SHIMIZU H, TAKASHASHI M, SATO N, UEHARA Y., FUKATSU A., NEGISHI M., KOBAYASHI I, KOBAYASHI S. The significance of decreased ambulatory activity during the generation by long-term observation of obesity in ovariectomized rats. Physiol Behav 47:155-159, 1990.

SHUPNIK MA, RIDGWAY EC, CHIN WW. Molecular biology of thyrotropin. Endocr Rev 10: 459-475, 1989.

SILVA JE and LARSEN PR Adrenergic activation of triiodothyronine production in brown adipose tissue. Nature. Oct 20-26;305(5936):712-3, 1983.

SIMPSON ER, CLYNE C, RUBIN G, BOON WC, ROBERTSON K, BRITT K, SPEED C and JONES M. Aromatase- A brief Overview. Annu. Rev. Physiol. 64: 93-127, 2002.

SOSIC-JURJEVIC B., FILIPOVIC B., MILOSEVIC V., NESTOROVIC N., NEGIC N., SEKULIC M. Effects of ovariectomy and chronic estradiol administration on pituitary–thyroid axis in adult rats. Life Sciences 79 890–897, 2006.

SPRITZER MP, DOS REIS FM, FRANCI, CR, ANSELMO-FRANCI JA. Gônadas. In: AIRES, Margarida de Mello(editora). Fisiologia Básica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

STANSBIE D, BROWSEY RW, CRETТАZ M, DEMTON RM. Acute effects in vivo of anti-insulin serum on rates of acids synthesis and activities of acetyl-coenzyme A carboxilase and pyruvate dehydrogenase in liver and epididymal adipose tissue of fed rats. Biochem J, 160:413-416, 1976.

STEPHENS TW, BASINSKI M, BRISTOW PK, BUE-VALLESKEY JM, BURGETT SG, CRAFT L, HALE J, HOFFMANN J, HSIUNG HM, KRIAUCIUNAS A, MACKELLAR W, ROSTECK PR, SCHONER B, SMITH D, TINSLEY F, ZHANG X, HEIMAN M. The role of neuropeptide Y in the antiobesity action of the obese gene product. Nature 377: 530–532, 42. Wade GN. Sex Hormones, Regulatory Behaviors, 1995.

SULLO A., BRIZZI G., MAFFULLI N. Deiodinating activity in the brown adipose tissue of rats following short cold exposure after strenuous exercise. Physiology & Behavior (80) 399-403, 2003.

TERJUNG RL, TIPTON CM. Plasma thyroxine and thyroid stimulin hormone level during submaximal exercise in humans. Am J Physiol 220:1840-5, 1971.

THOMPSON EA Jr, SIITERI PK. The involvement of human placental microsomal cytochrome P450 in aromatization. *J. Biol. Chem.* 249:5373-78, 1974.

TOU CL and WADE CE. Determinants affecting physical activity levels in animal models. *Exp Biol Med* (Maywood) Sep; 227(8):587-600, 2002.

TOURINHO FILHO H, Respostas morfo-fisiológicas do organismo ao treinamento aeróbio e de força. *Rev Medica HSPV* 11 (28):23-30, 2001.

TROPP J, MARKUS E. Sex differences in the dynamics of cue utilization and exploratory behavior. *Behav Brain Res* 119:143–154, 2001.

TSAI MING-JER, CLARK JH., SCHRADER WT, O'MALLEY B.W. Hormones that Act as Transcription-Regulatory Factors. In: Wilson J.D. & Foster DW (editores) *Williams Textbook of Endocrinology*. (9^a ed.). W.B. Saunders Company, Philadelphia, cap. 4, 1998.

VILLENA JA, HOCK MB, CHANG WI, BARCAS JE, GIGUÈRE V, KRALLI A. Orphan nuclear receptor estrogen-related receptor α is essential for adaptive thermogenesis. *Proc Natl Acad Sci* ;104(4):1418-23, 2007.

WILBER J.F. Control of Thyroid Function: The Hypothalamic-pituitary-thyroid. In: De Groot, L.J. (editor). *Endocrinology*. (3^a ed.). W.B. Saunders Company, EUA, cap 38, p. 602-616, 1995.

WIRTH A., HOLM G., LINDSTEDT G., LUNDBERG PA, BJORNTORP P. Thyroid hormones and lipolysis in physically trained rats. *Metabolism*. 30: 237-241, 1981.

YANE K, KITAHORI Y, KONISHI N, OKAICHI K, OHNISHI T, MIYAHARA H, MATSUNAGA T, LIN JC, HIASA Y. Expression of the estrogen receptor in human thyroid neoplasms. *Cancer Lett.* Aug 29;84(1):59-66, 1994.

YEN PM. Physiological and molecular basis of thyroid hormone action. *Physiol Rev.* Jul;81(3):1097-142. Review, 2001.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)