

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

EDGAR TERUHIKO HATORE

EFEITO DA INTENSIDADE DO ESTRESSE SOBRE MARCADORES

METABÓLICOS

Este exemplar corresponde à redação final
da tese defendida pelo(a) candidato (a)
Edgar T. Hatore
e aprovada pela Comissão Julgadora.

Ric

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Biologia Funcional e Molecular, área de Fisiologia, para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Profa. Dra. Regina Célia Spadari-Bratfisch

Co-Orientadora: Profa. Dra. Dora Maria Grassi-Kassisse

Campinas, 2006

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE BIOLOGIA – UNICAMP**

T286e

Hatore, Edgar Teruhiko

Efeito da intensidade do estresse sobre marcadores metabólicos / Edgar Teruhiko Hatore. -- Campinas, SP: [s.n.], 2006.

Orientadora: Regina Célia Spadari-Bratfisch.

Co-orientadora: Dora Maria Grassi-Kassisse.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia.

1. Natação. 2. Corticosterona. 3. Tecido adiposo.
4. Hipotermia. 5. Lactatos. I. Spadari-Bratfisch, Regina Célia. II. Grassi-Kassisse, Dora Maria. III. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. VI. Título.

Título em inglês: Effect of stress intensity on metabolic markers.

Palavras-chave em inglês: Swimming; Corticosterone; Adipose tissue; Hypothermia; Lactates.

Área de concentração: Fisiologia.

Titulação: Mestre em Biologia Funcional e Molecular.

Banca examinadora: Regina Célia Spadari-Bratfisch, Fernanda Klein Marcondes, Lila Missae Oyama.

Data da defesa: 25/10/2006.

Programa de Pós-Graduação: Biologia Funcional e Molecular.

Data da Defesa: 25 de outubro de 2006

BANCA EXAMINADORA:

Profa. Dra. Regina Célia Spadari-Bratfisch (Orientadora)

R.C.

Profa. Dra. Fernanda Klein Marcondes

Fernanda Kle. Marcondes

Profa. Dra. Lila Missae Oyama

Lila Missae Oyama

Profa. Dra. Iraídes Nunes dos Santos

Prof. Dr. Miguel Arcanjo Areas

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, que sempre permitiram que escolhesse os meus caminhos e me apoiaram proporcionando condições para a realização de meus ideais.

Amo muito vocês.

Dedico também a meus avós que, não estão de corpo presente conosco, descansam na paz de Deus.

AGRADECIMENTOS

A Deus por sempre me ajudar. Acredito que a felicidade surge sempre quando conseguimos superar obstáculos. Este é mais um momento de felicidade na minha vida.

Aos amigos do Laboratório de Estudos do Estresse (LABEEST): Alexandre, André, Aglécio, Danilo, Elaine, Edla, Elisângela, Gerusa, Héder, Heloísa, Juliana, Karina, Márcia, Maria Cândida, Marília, Marília Mantovani Sampaio Barros e Viviane pelo apoio, ajuda, ensinamentos, companheirismo e os momentos de alegria proporcionados.

Às estagiárias do laboratório, Débora, Aline, Danuza e Alynne que ajudaram de maneira indireta, colaboraram a manter a ordem no laboratório e também, junto às outras representantes femininas do laboratório, a embelezar esse ambiente.

À Marília M. Sampaio Barros pela ajuda neste trabalho com a pronta disposição para me atender quando precisei e pelos ensinamentos no repasse de seus conhecimentos nas técnicas laboratoriais.

À Elisângela Farias Silva pelo precioso papel que desempenhou na minha vida aqui no laboratório. Toda a ajuda, ensinamentos, explicações e transmissão de experiência de vida que me fez passar a admirar essa pessoa especial.

À Márcia, Elaine e Juliana pelos ensinamentos e companheirismo. Essas meninas sempre me ajudaram a solucionar questões que me deixavam estarecido. São dotadas de

muito conhecimento científico pela competência que o fazem, mas também são preocupadas com o lado humano de cada um, são pessoas especiais.

Ao “my friend” Danilo. Companheiro de experimentos e refeições. Sempre me ajudou quando precisei e se tornou um verdadeiro e grande amigo devido ao seu carisma e companheirismo.

Alexandre, André e Héder amigos inesquecíveis que se tornaram. Também sempre companheiros e transmissores de conhecimentos. Sei que, sempre que precisar poderei contar com eles. E podem ter certeza, a recíproca é verdadeira.

À Karina, minha companheira de egresso nesse programa de pós-graduação. Humilde, sensível, companheira, batalhadora e vencedora. Pessoa inesquecível pela bondade que traz no coração.

Aos professores do departamento com o qual aprendi bastante e por isso, com certeza, me ajudaram muito na minha vida profissional.

Às professoras, Dr^a Fernanda Klein Marcondes e Dr^a Lila Missae Oyama, e o prof. Dr Márcio Torsoni por terem colaborado de forma significativa para o formato final desse trabalho.

Outras pessoas se tornaram marcantes nesse período de muito trabalho, devido ao compartilhamento de momentos de alegria e descontração para ajudar a aliviar o estresse e auxiliaram nos meus experimentos: Leandro, José Antônio, Alessandro, Amarilys, Emilianne, Emeirielle, Cláudinha, Labex, André Moraes e tantas outras pessoas que não dá para citar aqui. Obrigado a todos vocês.

Aos funcionários do departamento de Fisiologia e Biofísica, Alexandra, Milena (filha da Alexandra), Ivo, Léscio, Chico e Dona Lu pelos serviços prestados e o alegre convívio.

À Andréa e Marina por toda a ajuda na burocracia da Instituição. Sempre pacientes e muito dedicadas no atendimento.

Ao meu amigo e grande incentivador do mestrado, Joaquim M. F. Antunes Neto que me ajudou muito, não somente em atividades acadêmicas, como na vida.

Aos meus pais pela educação, conforto, compreensão, apoio, carinho e amor que sempre têm comigo e com meus irmãos.

À Fernanda A. Ramos que sempre me apoiou nos momentos mais difíceis e teve compreensão e paciência comigo e meus compromissos. Uma demonstração de companheirismo e dedicação que eu jamais esquecerei. Espero poder recompensá-la por todo o carinho e atenção.

À Prof^ª Dr^a Dora Maria Grassi Kassis, minha co-orientadora, primeira professora que fiz contato com esse laboratório. Lembro do primeiro dia que conversamos, ela atenciosa como sempre, me ajudou muito nesta jornada. Após esses anos de trabalho e convivência, só tenho que agradecer tudo o que ela fez por mim, todos os ensinamentos científicos, morais, a compreensão e paciência. Admiro muito e respeito a pesquisadora e educadora, e ainda mais a pessoa humana. Fico muito feliz por tê-la conhecido.

À Prof^ª Dr^a Regina Célia Spadari Bratfisch, minha orientadora e exemplo de dedicação, responsabilidade e seriedade com tudo o que se compromete a fazer. A admiração somente aumentava a cada reunião com a competência de trabalho e demonstração de conhecimento profundo do que faz. Agradeço a compreensão pela minha situação em vários aspectos, assim como a coragem de aceitar no laboratório uma pessoa até então estranha. Desculpo-me se não atendi à altura ao acolhimento e confiança depositados em mim. Levo comigo todo o aprendizado científico e de vida que adquiri nesses anos de convívio. Muito obrigado, de coração, por permitir e me ajudar a conquistar mais essa meta da minha vida.

Aos animais agradeço e sinto muito por nos doarem a vida.

SUMÁRIO

RESUMO.....	xi
ABSTRACT.....	xiii
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xv
LISTA DE TABELAS.....	xvi
LISTA DE FIGURAS.....	xviii
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Aspectos Neuroendócrinos do Estresse.....	1
1.2 Efeitos dos Hormônios do Estresse sobre o Metabolismo de Carboidratos e de Lipídeos.....	4
1.3 Estresse e Sensibilidade dos Tecidos às Catecolaminas.....	5
2. OBJETIVO.....	9
3. MATERIAL E MÉTODO.....	10
3.1 Animais.....	10
3.2 Grupos Experimentais.....	10
3.3 Estresse por Natação.....	11
3.4 Sacrifício dos Animais e Coleta de Tecidos e Sangue.....	11
3.5 Coleta e Preparação dos Adipócitos.....	12
3.6 Determinação da Concentração de Glicerol e de Lactato no Meio de Incubação de Adipócitos.....	13
3.7 Determinação da Glicemia.....	14

3.8 Determinação da Concentração Sangüínea de Lactato.....	14
3.9 Determinação da Concentração Plasmática de Corticosterona, Ácidos Graxos Livres e de Glicerol.....	15
3.10 Determinação da Concentração Muscular e Hepática de Glicogênio.....	15
3.11 Análise Estatística.....	16
4. RESULTADOS.....	17
5. DISCUSSÃO.....	34
6. CONCLUSÕES.....	44
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	45
8. ANEXOS.....	59

RESUMO

Os efeitos do estresse por natação sobre marcadores metabólicos diferem daqueles do estresse por choques nas patas. Estas diferenças poderiam ser conseqüências da natureza do estressor, que difere nos dois modelos, ou da intensidade de estresse, que parece ser menor quando os animais são submetidos à natação do que quando submetidos a choque nas patas. O objetivo deste trabalho é avaliar o efeito da intensidade do estressor sobre a mobilização de substratos metabólicos. Ratos Wistar adultos foram distribuídos em grupos: controle, não submetido à natação; e ratos submetidos à natação em água a 35°C, 24°C ou 18°C. As sessões de natação ocorreram em três dias consecutivos com 5, 15 e 15 min de duração, respectivamente. Os ratos foram pesados antes da primeira e da última sessão de natação e após a última sessão sua temperatura retal foi determinada por um tele-termômetro; foram anestesiados e uma amostra de sangue foi coletada por punção cardíaca. Foram retiradas amostras do fígado e dos músculos gastrocnêmio, sóleo e ventricular cardíaco. Adipócitos foram isolados do tecido adiposo epididimal e incubados com agonistas adrenérgicos. O glicerol e o lactato liberados no meio infranadante foram considerados como indicadores da sensibilidade das respostas lipolítica e glicolítica aos agonistas, respectivamente. Foram determinadas também as concentrações plasmáticas de glicose, lactato, ácidos graxos livres, glicerol e corticosterona, além da concentração muscular e hepática de glicogênio. O peso corporal dos ratos dos quatro grupos não apresentou diferença estatisticamente

significativa antes da primeira ou da terceira sessão de natação. Após natação em temperaturas de 24°C e 18°C os ratos apresentaram hipotermia ($30,7 \pm 0,7^{\circ}\text{C}$ e $24,0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, respectivamente) em relação os grupos controle ($37,2 \pm 0,12^{\circ}\text{C}$) e natação a 35°C ($36,7 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$), entre os quais não houve diferença estatisticamente significativa. Após a terceira sessão de natação, a concentração plasmática de corticosterona aumentou significativamente nos grupos submetidos à natação em 18°C ($294,7 \pm 17,9 \text{ ng/mL}$) e 24°C ($289,5 \pm 27,1 \text{ ng/mL}$) do que 35°C ($166,3 \pm 11,8 \text{ ng/mL}$), sendo os três significativamente diferentes do controle ($57,2 \pm 10,0 \text{ ng/mL}$), enquanto que as concentrações sanguíneas de lactato e de ácidos graxos livres estavam significativamente elevadas em relação ao controle, mas não diferiram entre os grupos de ratos submetidos à natação. As concentrações de glicogênio das amostras hepáticas, cardíacas e do músculo sóleo de ratos submetidos à natação não diferiram significativamente do grupo controle. Porém, as concentrações de glicogênio nas porções branca e vermelha do músculo gastrocnêmio estavam reduzidas após natação. Em adipócitos isolados de ratos submetidos à natação houve aumento da liberação basal de glicerol e de lactato, mas as respostas ao d-butil-AMPc, à noradrenalina e à adrenalina, assim como a sensibilidade às duas catecolaminas, não diferiu significativamente do controle. Concluímos que a intensidade do agente estressor pode ser modulada pela temperatura da água em protocolos de estresse por natação, de modo que as temperaturas mais baixas em relação à temperatura corporal do rato determinam respostas de estresse mais intensas, evidenciadas pela concentração plasmática de corticosterona. Entretanto, as alterações observadas nos marcadores metabólicos analisados são independentes da intensidade do estressor, no paradigma de estresse utilizado neste trabalho.

ABSTRACT

The effects of swimming stress on metabolic markers are different than those induced by foot-shock stress. These differences might be due either to stress intensity, which seems to be minor when the rats are submitted to swimming than foot-shock stress, or to the type of stressor agent. The aim of this work is to evaluate the effect of the stressor intensity on metabolic markers. Adult Wistar rats were distributed in groups: control, not submitted to swimming; or swimming stressed rats with the water temperature at 35°C, 24°C or 18°C. Swimming sessions occurred daily, for 3 days, with 5, 15 and 15 min duration, respectively. Before the first and last sessions the rats were weighed and after the last swimming session the rat's rectal temperature was determined using a tele-thermometer; then the rats were anesthetized and a blood sample was collected through cardiac puncture. Samples of the liver, as well as the gastrocnemius, soleus and cardiac muscles were also collected. Adipocytes were isolated from the epididimal adipose tissue and were incubated with adrenergic agonists. The glycerol and lactate released in the infranatant were considered as indicative of *in vitro* lipolytic and glycolytic sensitivity to the agonists, respectively. The plasma concentrations of glucose, lactate, free fat acids, glycerol and corticosterone, as well as the muscular and hepatic glycogen concentrations were determined. The results have shown that the rat's body weights were not altered by swimming. After swimming at 24°C and 18°C the rats showed severe hypothermia ($30.7 \pm 0.7^\circ\text{C}$ and $24.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$, respectively, $p < 0.05$), whereas swimming at 35°C did not alter the rats rectal temperature ($36.7 \pm 0.2^\circ\text{C}$) compared to control ($37.2 \pm 0.12^\circ\text{C}$). The plasma levels of corticosterone significantly enhanced in 18°C ($294.7 \pm 17.9 \text{ ng/mL}$), 24°C (289.5

± 27.1 ng/mL) and 35°C (166.3 ± 11.8 ng/mL) swimming groups, compared to control (57.2 ± 10.0 ng/mL). The glucose and glycerol plasma levels were not altered, whereas the blood lactate and free fat acids levels significantly increased after swimming, with no difference between the stressed groups. Swimming did not alter the glycogen concentrations of the liver as well as cardiac and soleus muscle, but caused a decrease in the white and red gastrocnemius compared to control, with the decrease being independent of the water temperature. The in vitro basal glycerol and lactate release by adipocytes increased, similarly in all swimming groups. The lipolytic response to d-butiryl cAMP, norepinephrine and epinephrine were not different between groups. Catecholamines determined a biphasic effect on lactate release by adipocytes with the concentrations in the range up to 10 nM being stimulant and those higher than 10 nM being inhibitory of lactate release. No differences were observed between groups. We conclude that the stress intensity might be modulated by the water temperature in protocols of swimming stress, with lower temperatures being more stressful than those similar to the rats body temperature, as determined by the plasma levels of corticosterone. We also conclude that the swimming stress paradigm altered the analyzed metabolic markers in a manner that was independent of the stressor intensity (homotypic), in the stress paradigm used in this work.

LISTA DE ABREVIATURAS

KRBA – Krebs Ringer Bicarbonato Albumina

mM – concentração milimolar

ivGTT – intravenous glucose tolerance test

EC₅₀ – concentração no qual é observado 50% da resposta máxima

pD₂ – logaritmo negativo da concentração que induziu 50% da resposta máxima

EPM – erro padrão da média

°C – graus Celsius

UCP – *Uncoupling proteins* (proteínas desacopladoras)

MCT – *monocarboxylate transporters*

CCR – Curva concentração resposta

Rpm – rotações por minuto

mg/Kg, ip – miligramas por quilo corporal, intra-peritonal

mg/Kg, im – miligrama por quilo corporal, intra-muscular

nm - nanômetro

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Peso corporal (g) de ratos controle e de ratos antes da primeira e da terceira sessões de natação (5, 15 min) em água à temperatura de 18°C, 24°C ou 35°C, e temperatura corporal (°C) após a terceira sessão de natação (15 min).....	20
Tabela 2 - Concentrações sanguíneas de corticosterona (plasma), de lactato (sangüíneo), de glicose (plasma), ácidos graxos livres (plasma) e de glicerol (plasma) de ratos controle e de ratos submetidos a três sessões de natação (5, 15 e 15 min) em água à temperatura de 18°C, 24°C ou 35°C.....	21
Tabela 3 - Concentração de glicogênio (mg/100mg) hepático e muscular de ratos controle e em ratos submetidos a três sessões de natação (5, 15 e 15 min) em água à temperatura de 18°C, 24°C ou 35°C. Os tecidos musculares analisados foram sóleo, ventrículo cardíaco e gastrocnêmios [porções branca (GB) e vermelha (GV)].....	23
Tabela 4 - Liberação basal e estimulada por d-butil AMPc (1 mM) de glicerol (μmol glicerol em 10 ⁶ células/60 minutos) em adipócitos epididimais isolados de ratos controle e de ratos submetidos a três sessões de natação (5, 15 e 15 min) em água à temperatura de 18°C, 24°C ou 35°C.....	24
Tabela 5 - Valores pD ₂ e resposta máxima (RM) (μmol glicerol em 10 ⁶ células/60 minutos) à adrenalina e noradrenalina em adipócitos epididimais isolados de ratos controle e de ratos submetidos a três sessões de natação (5, 15 e 15 min) em água à temperatura de 18°C, 24°C ou 35°C.....	25

Tabela 6 - Liberação basal de lactato e resposta máxima (RM) (μmol lactato em 10^6 células/60 min) à noradrenalina e adrenalina em adipócitos epididimais isolados de ratos controle e de ratos submetidos a três sessões de natação (5, 15 e 15 min) em água à temperatura de 18°C, 24°C ou 35°C.....	24
--	-----------

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Concentração plasmática de corticosterona de ratos controle e de ratos submetidos a três sessões de natação em água à temperatura de 35°C, 24°C ou 18°C. * indica diferença estatisticamente significativa em relação ao controle; # indica diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo 35°C (p<0,05, ANOVA seguido de teste de Fisher)..... **22**
- Figura 2 - Liberação espontânea de glicerol (lipólise basal) por adipócitos isolados de ratos submetidos à natação em diferentes temperaturas. *indica diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo controle (p<0,05, ANOVA seguida de teste de Fisher)..... **24**
- Figura 3 - Liberação de glicerol em resposta à noradrenalina e à adrenalina em adipócitos isolados de ratos submetidos à natação em diferentes temperaturas..... **26**
- Figura 4 - Liberação espontânea de lactato (glicólise basal) por adipócitos isolados de ratos submetidos à natação em diferentes temperaturas. *indica diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo controle (p<0,05, ANOVA seguida de teste de Fisher)..... **27**
- Figura 5 - Curva em forma de sino da liberação de lactato em resposta à noradrenalina em adipócitos isolados de ratos submetidos à natação em diferentes temperaturas (1); fase estimulatória da secreção (2) e fase inibitória da secreção (3)..... **28**
- Figura 6 - Porcentagem de liberação e de inibição da liberação de lactato em resposta à

noradrenalina em adipócitos de ratos controle, comparados a adipócitos isolados de ratos submetidos à natação em diferentes temperaturas.....	29
Figura 7 - Curva em forma de sino da liberação de lactato em resposta à adrenalina em adipócitos isolados de ratos submetidos à natação em diferentes temperaturas (1); fase estimulatória da secreção (2) e fase inibitória da secreção (3).....	30
Figura 8 - Porcentagem de liberação e de inibição da liberação de lactato em resposta à adrenalina em adipócitos de ratos controle, comparados a adipócitos isolados de ratos submetidos à natação em diferentes temperaturas.....	31
Figura 9 - Comparação da liberação de glicerol e de lactato em resposta à noradrenalina em adipócitos isolados de ratos submetidos à natação em diferentes temperaturas.....	32
Figura 10 - Comparação da liberação de glicerol e de lactato em resposta à adrenalina em adipócitos isolados de ratos submetidos à natação em diferentes temperaturas	33

1. INTRODUÇÃO

1.1. Aspectos Neuroendócrinos do Estresse

Os efeitos do que hoje conhecemos como estresse são descritos desde os tempos mais remotos até os dias atuais. No entanto, o conceito de estresse é moderno e traduz um complexo repertório de respostas fisiológicas de ativação de vários, porém integrados, sistemas orgânicos como o nervoso, o endócrino, o cardiovascular e o imunológico, que induzem alterações comportamentais e homeostáticas.

A humanidade deve a Hans Selye essa concepção moderna de estresse. Em 1936, Selye apresentou à comunidade científica a caracterização da “resposta não específica do nosso organismo às demandas a ele impostas”, publicando um importante trabalho, onde descreveu a “Síndrome Geral da Adaptação”, cuja resposta Selye denominou “estresse”. Essas demandas impostas ao organismo que podem alterar sua homeostasia são chamadas de “agentes estressores” (CHARMANDARI *et al.*, 2005). A Síndrome Geral da Adaptação é caracterizada por três fases: o primeiro estágio configura uma “reação de alarme”, representando a resposta inicial do organismo frente ao agente estressor, ocorrendo quando o organismo não está adaptado ao estímulo recebido. Em seguida, sendo mantido o estímulo, ocorre a fase de resistência, caracterizada pela ativação de mecanismos adaptativos. Não ocorrendo adaptação, desenvolve-se o estágio de exaustão onde o organismo está susceptível a distúrbios (SELYE, 1936; VAN DE KAR *et al.*, 1991; HAMMET e TREMBLAY, 2002; MOTZER e HERTIG, 2004).

Inicialmente, a Síndrome Geral de Adaptação foi descrita como uma reação geral e inespecífica (SELYE, 1936). Entretanto, a continuidade dos estudos sobre a resposta de estresse evidenciou seu caráter específico (MASON, 1968a; MASON, 1968b; KRULICH *et*

al., 1974; HENNESSY *et al.*, 1979; HERD, 1991) pela influência de estressores ambientais (MARPLES, 1972), do gênero (LESCOAT *et al.*, 1970; ANISHCHENKO e GUDKOVA, 1992; PARÉ e REDEI, 1993), da idade (RIEGLE, 1973) e, principalmente, da percepção individual do agente estressor, o que depende das experiências vividas e da novidade ou previsibilidade do estímulo (GRIFFIN, 1989; VOGEL e JENSH, 1998).

O conceito de estresse pressupõe que, após a reação de estresse, o organismo recupera sua homeostasia, ou seja, garante a manutenção do equilíbrio interno, apesar das variações do meio externo. Esta constância do meio interno é obtida com a regulação por retroalimentação negativa, que direcionam para o retorno à situação inicial. Recentemente, alguns autores propuseram um novo conceito para designar a estabilidade do meio interno, nas situações de mudança fisiológica a que o organismo é submetido constantemente. O novo conceito propõe que a homeostasia existe apenas para alguns poucos parâmetros fisiológicos, por exemplo, a constância do pH ou osmolaridade dos fluidos corporais; enquanto que os demais parâmetros se alteram para garanti-la. Assim sendo, sistemas efetores, tais como o sistema nervoso central e o hormonal, são ativados para promover a adaptação do organismo à nova situação e não para o retorno a uma situação anterior que não mais existe. A este conceito, segundo o qual “a estabilidade é mantida por meio da mudança” foi dado o nome de alostasia (STERLING & EYER, 1988). Os mecanismos acionados na alostasia são chamados de mecanismos alostáticos (CHROUSOS e GOLD, 1992; SANTOS e SPADARI-BRATFISCH, 2006).

O conjunto dos mecanismos alostáticos ativos em determinado instante constitui a “carga alostática” e o processo por ele desencadeado é denominado de adaptação. Porém, se a carga alostática é excessiva ou persiste por muito tempo, seja de modo contínuo ou intermitente, passa a configurar uma outra situação que é denominada de “sobrecarga

alostática”. Essa situação pode resultar em mal-adaptação devida à ativação exacerbada dos sistemas efetores (SANTOS e SPADARI-BRATFISCH, 2006), o que promove as mesmas conseqüências da fase de exaustão da Síndrome Geral da Adaptação de Selye, podendo surgir as, assim chamadas, doenças relacionadas ao estresse.

O estresse promove a ativação de um eixo neuro-hormonal que se inicia na região límbica do hipotálamo, passa pela hipófise e termina na glândula adrenal sendo, por isso, chamado de eixo hipotálamo - pituitária (hipófise) - adrenal (HPA). Concomitantemente, ocorre a ativação do eixo formado pelo sistema nervoso simpático - medula adrenal. Estes eixos constituem os componentes periféricos dos “sistemas de estresse” (CHARMANDARI *et al.*, 2005) e, quando ativados, promovem o aumento das concentrações plasmáticas de catecolaminas e de glicocorticóides, considerados os hormônios do estresse (AXELROD e REISINE, 1984).

Outros eixos neuroendócrinos também podem ser alterados, como aqueles relacionados ao hormônio do crescimento (KRULICH *et al.*, 1974; LUGER *et al.*, 1988), ao hormônio luteinizante (KRULICH *et al.*, 1974; EUKER *et al.*, 1975), ao hormônio folículo-estimulante (KRULICH *et al.*, 1974), à prolactina (EUKER *et al.*, 1975; KANT *et al.*, 1983) e à tireotropina (MILLS, 1985).

O aumento na concentração plasmática desses hormônios do estresse inicia alterações metabólicas que produzem mobilização de substratos energéticos a partir de tecidos de armazenamento, como o hepático e o adiposo branco. O tecido adiposo marrom é ativado quando o agente estressor inclui o frio, já que sua função está relacionada à termogênese (TRAYHURN, 1979; HIMMIS-HAGEN, 1990; COLLINS *et al.*, 2001; Van MARKEN LICHTENBELT e DAANEN, 2003).

O aumento da mobilização metabólica resulta em disponibilização de carboidratos e lipídios para a atividade celular, os quais contribuem para a tentativa de manutenção da homeostasia em situações de estresse, por meio de ajustes de outros sistemas como, por exemplo, o cardiovascular, o respiratório, o nervoso e o muscular (SELYE, 1936; HERD, 1991).

1.2. Efeitos dos Hormônios do Estresse sobre o Metabolismo de Carboidratos e de Lipídeos

As catecolaminas, principalmente a adrenalina, estimulam a glicogenólise e a gliconeogênese hepáticas (HIMMS-HAGEN, 1967; EXTON *et al.*, 1972; HUE *et al.*, 1978; YOREK *et al.*, 1980; KNEER e LARDY, 1983; PILKIS *et al.*, 1988; WATT *et al.*, 2001), enquanto que os glicocorticóides influenciam o metabolismo de carboidratos através de sua ação permissiva aos efeitos glicogenolítico e gliconeogênico das catecolaminas (EXTON *et al.*, 1972). O glucagon, que na situação de estresse também tem sua concentração aumentada devido à ação das catecolaminas, inibe a secreção de insulina e também ativa a gliconeogênese hepática. Como resultado, ocorre aumento da glicemia (EIGLER *et al.*, 1979; RETANA-MARQUEZ *et al.*, 2003). Esses efeitos foram confirmados no trabalho de Verago *et al.* (2001), no qual foi constatado o aumento da glicemia e da concentração de corticosterona em ratos submetidos a estresse por choque nas patas.

Em tecido adiposo branco de ratos, o glucagon e os agonistas beta-adrenérgicos estimulam a atividade lipolítica causando liberação de ácidos graxos livres e de glicerol (SLAVIN *et al.*, 1994; LAFONTAN *et al.*, 1995, 2001, 2002), enquanto os glicocorticóides desempenham um papel permissivo na manutenção da resposta lipolítica às catecolaminas (FAIN e GARCÍA-SÁINZ, 1983). Neste mesmo tecido, a insulina e os agonistas alfa-

adrenérgicos, promovem aumento da captação de glicose, que é metabolizada a lactato, o qual é liberado na circulação (DIGIROLAMO *et al.*, 1992; FAINTRENIE e GÉLOËN, 1995, 1998; CHENG *et al.*, 2000; BOSCHMANN *et al.*, 2002). Ratos submetidos a estresse por choque nas patas apresentam aumento da área sob a curva da glicose durante a realização do ivGTT, sugerindo uma resistência à captação de glicose pelos tecidos desses animais (FARIAS-SILVA *et al.*, 2002).

O fígado é considerado o principal órgão responsável pela captação de glicerol (LIN, 1977) e de lactato (DIGIROLAMO *et al.*, 1992) a partir do plasma, os quais podem ser utilizados como substratos para a gliconeogênese (DIETZE *et al.*, 1976; CONSOLI *et al.*, 1989) e, no caso do glicerol, também para a síntese de triacilgliceróis (PITTNER *et al.*, 1985a, b; BRINDLEY *et al.*, 1988; NEWGARD *et al.*, 2000). Estes processos podem ser modulados pelas catecolaminas, pelo glucagon e pelos próprios ácidos graxos (PITTNER *et al.*, 1985a, b; BRINDLEY *et al.*, 1988; PAULETTO *et al.*, 1991). A elevação da concentração plasmática de catecolaminas e de glicocorticóides resulta em aumento do *turnover* dos elementos lipídicos do metabolismo, que pode ser acompanhado ou não da elevação de suas concentrações plasmáticas. Esta mobilização metabólica é fundamental para que o organismo tenha energia suficiente para a reação de estresse.

1.3. Estresse e Sensibilidade dos Tecidos às Catecolaminas

As alterações neurais e hormonais que ocorrem durante a resposta de estresse, que levam também a modificações na dinâmica metabólica, podem promover alterações na sensibilidade dos tecidos às catecolaminas. Os fatores que determinam subsensibilidade ou supersensibilidade adrenérgica podem ser: alterações nos sistemas de metabolização que limitam a meia vida dos agonistas adrenérgicos; modificação do número de adrenoceptores;

alterações da afinidade dos receptores aos agonistas, e/ou mudanças no processo de acoplamento entre os adrenoceptores e os sistemas de segundo mensageiros, afetando qualquer das etapas intracelulares do processo de ativação celular.

Os mecanismos envolvidos nessas alterações podem variar de acordo com o tipo de agente estressor e de fatores intrínsecos, como a espécie e o gênero. Em fêmeas, também dependem das fases do ciclo reprodutivo (POLLARD *et al.*, 1975; RODRIGUES *et al.*, 1995; MARCONDES *et al.*, 1996; VANDERLEI *et al.*, 1996; SPADARI-BRATFISCH *et al.*, 1999; TANNO *et al.*, 2002).

A equipe do Laboratório de Estudos do Estresse (LABEEST/UNICAMP) estuda os efeitos do estresse sobre a sensibilidade do tecido cardíaco a agonistas adrenérgicos (MARCONDES *et al.*, 1996; VANDERLEI *et al.*, 1996; SPADARI-BRATFISCH *et al.*, 1999). Mais recentemente, o grupo também se interessou pelos efeitos do estresse sobre a resposta lipolítica às catecolaminas de adipócitos isolados do pâncreo adiposo epididimal de ratos. Farias-Silva *et al.* (1999) demonstraram que ocorrem alterações de sensibilidade da resposta adrenérgica em adipócitos epididimais isolados de ratos submetidos a estresse por choque nas patas, que se caracterizam por supersensibilidade ao isoproterenol e à adrenalina e subsensibilidade à noradrenalina e ao BRL37344. Estas alterações refletem aumento na expressão de adrenoceptores do subtipo β_2 e diminuição na expressão dos subtipos β_1 e β_3 (FARIAS-SILVA *et al.*, 2004). Por outro lado, adipócitos epididimais isolados de ratos submetidos à natação (uma única sessão de 60 minutos, ou uma sessão por dia em três dias consecutivos de 5, 15 e 30 min, respectivamente) apresentam supersensibilidade à adrenalina, mas esta não é acompanhada de alteração da sensibilidade à noradrenalina (SAMPAIO-BARROS *et al.*, 2003). Em conjunto, estes dados sugerem que

as alterações de sensibilidade às catecolaminas induzidas por estresse, em adipócitos de ratos, dependem da natureza do estressor e seriam, portanto, específicas. Alternativamente, podem significar também que o estresse por choques nas patas seria mais intenso que o estresse por natação e, por isso, causaria maiores alterações na população de adrenoreceptores dos tecidos adiposo e cardíaco.

O estresse por choque nas patas é acompanhado de aumento nas concentrações plasmáticas de corticosterona, glicose e triacilgliceróis, mas não de glicerol (VERAGO *et al.*, 2001), enquanto que a natação causa aumento na concentração sanguínea de glicose, lactato e de ácidos graxos livres, assim como na lipólise basal analisada em adipócitos isolados (SAMPAIO-BARROS *et al.*, 2003). Estes dados sugerem que as diferenças nas alterações metabólicas desencadeadas por diferentes estressores podem ser devidas ao tipo ou à intensidade do agente estressor.

A intensidade do estresse por natação pode ser alterada modificando-se a temperatura da água, as dimensões do tanque de natação e a profundidade da água (CALIL e MARCONDES, 2006), além do tempo de permanência na água, e adição de pesos ao animal.

Com o objetivo de esclarecer se a intensidade do estressor leva a respostas metabólicas diferentes, optamos por utilizar o estresse por natação em diferentes temperaturas, 35°C, 24°C e 18°C (KONARSKA *et al.*, 1989, 1990). Nós partimos do pressuposto que a diminuição da temperatura da água aumenta a intensidade do estresse, uma vez que, em um paradigma de estresse por imersão em água a diferentes temperaturas, Drugan *et al.* (2005) demonstraram que a temperatura da água influencia a temperatura corporal dos ratos, causando hipotermia que é proporcional ao tempo de imersão e à temperatura da água. Os mesmos autores demonstraram que o aumento na concentração

plasmática de corticosterona, indicativa da intensidade do estresse, é proporcional à diferença entre a temperatura da água e a temperatura corporal dos ratos (DRUGAN *et al.*, 2005).

Em um trabalho anteriormente desenvolvido no laboratório, foi verificado que ratos Wistar suportam permanecer na água a 18°C por até dezessete minutos (SANTOS *et al.*, 2003). Assim sendo, estabelecemos a duração das sessões em, no máximo, quinze minutos, diferente do tempo utilizado nos trabalhos prévios do LABEEST que era de trinta minutos. O número de sessões e as dimensões do tanque foram mantidos semelhantes aos utilizados anteriormente (SAMPAIO-BARROS *et al.*, 2003).

2. OBJETIVOS

Os objetivos deste trabalho foram verificar se diferentes temperaturas da água induzem diferentes intensidades de resposta de estresse por natação, e se diferentes intensidades de estresse resultam em diferentes respostas metabólicas.

3. MATERIAL E MÉTODO

3.1. Animais

Foram utilizados ratos da cepa Wistar (*Rattus norvegicus*), com três meses de idade e peso de 250-350 g, adquiridos do Centro Multidisciplinar para Investigação Biológica (CEMIB) da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Esses animais foram mantidos no biotério do Departamento de Fisiologia e Biofísica do Instituto de Biologia da UNICAMP, em gaiolas coletivas, acondicionadas em sala climatizada ($22 \pm 2^{\circ}\text{C}$), com ciclo claro-escuro de 12 em 12 horas, com o ciclo claro iniciando-se às 6:30 horas. Os ratos permaneceram no biotério, pelo menos por uma semana, antes do início dos experimentos e receberam água e ração *ad libitum* durante todo o período. Os protocolos experimentais foram aprovados pela Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEAA-IB) do Instituto de Biologia da UNICAMP, sob número de protocolo 598-2.

3.2. Grupos Experimentais

Os ratos foram distribuídos em quatro grupos: controle, ratos não submetidos à natação, mas submetidos à manipulação diária para troca e higiene das gaiolas; (35°C), submetidos a três sessões de natação em água a 35°C; (24°C), submetidos a três sessões de natação em água a 24°C; (18°C), submetidos a três sessões de estresse por natação em água a 18°C. Os animais foram submetidos individualmente às sessões de natação e a água era trocada após cada sessão. Após a terceira sessão de natação os animais foram anestesiados para a coleta de sangue e sacrificados para a coleta de tecidos.

3.3. Estresse por Natação

Os ratos foram submetidos à natação em compartimentos plásticos cilíndricos (40 cm de diâmetro e 60 cm de altura) preenchidos à profundidade de 40 cm com água a 18°C, 24°C ou 35°C. Foi realizada uma sessão de natação por dia durante três dias consecutivos com 5, 15 e 15 minutos de duração, respectivamente. As sessões de natação ocorreram entre 7:30h e 11:00h. Após cada sessão de natação foi medida a temperatura retal dos ratos com um tele-termômetro (Yellow Springs Instrument Co, Inc., Yellow Springs, Ohio, EUA). Em seguida, os ratos permaneceram em sala aquecida até estarem completamente secos e então retornaram às gaiolas-moradia.

3.4. Sacrifício dos Animais e Coleta de Tecidos e Sangue

Para a análise da concentração sanguínea de lactato, antes e após cada sessão de natação, a cauda do animal consciente foi lancetada com uma agulha hipodérmica (0,80 x 25) e uma gota de sangue foi coletada diretamente em fitas de dosagem de lactato (BM-lactate strips, Roche Diagnostics GmbH, D-68298; Mannheim, Alemanha).

Para as análises plasmáticas, após a última sessão de natação, os ratos foram anestesiados com xilazina (10 mg/Kg, ip) e quetamina (50 mg/Kg, im), e o sangue foi coletado por punção cardíaca em tubo contendo com heparina.

Para a determinação da concentração plasmática de corticosterona, foi utilizado um outro lote de ratos, que foram anestesiados com tiopental sódico (Thiopentax, Laboratório Cristália, Itapira, SP, Brasil), na dose de 50 mg/Kg. Em seguida, o sangue foi coletado em seringas heparinizadas por punção cardíaca.

O sangue coletado foi centrifugado por 15 min a 2500 rpm. O plasma foi estocado em “freezer” à temperatura de -80°C, para posterior análise.

Os tecidos a serem analisados foram retirados logo após a punção cardíaca; em seguida, com exceção do tecido adiposo, foram congelados em nitrogênio líquido e, então, estocados à temperatura de -80°C para posterior análise. Foram coletados o ápice dos ventrículos cardíacos, o lóbulo hepático superior, os músculos sóleo e gastrocnêmio (porções branca e vermelha) e o pânículo adiposo epididimal. O tecido adiposo foi imediatamente utilizado, como descrito abaixo.

3.5. Coleta e Preparo dos Adipócitos

O pânículo adiposo epididimal foi removido, pesado (2,5g a 3g), fragmentado com tesoura e imerso em tampão digestivo Krebs Ringer Bicarbonato Albumina (KRBA), com a seguinte composição (mM): NaCl 118,7; KCl 4,69; CaCl₂ 2,52; KH₂PO₄ 1,18; NaHCO₃ 30,5; glicose 6; HEPES 10; acrescido de albumina bovina a 3% e collagenase (1 mg/mL); pH ajustado para 7,4. O tecido foi submetido à digestão por um período de 45 minutos a 37°C, sob agitação (60 ciclos/min). Ao final deste período, os adipócitos foram submetidos à filtração e lavagens sucessivas com KRBA sem collagenase (RODBELL, 1964; SAMPAIO-BARROS *et al.*, 2003).

Após a preparação dos adipócitos, a suspensão celular resultante foi filtrada através de uma malha de nylon e lavada três vezes com tampão KRBA sem collagenase. Realizado esse processo, uma alíquota da suspensão celular final foi observada ao microscópio para a contagem das células adiposas íntegras, em câmara Mallassez, para ajuste da concentração de células em 100.000 células/mL (FAINTRENIE e GÉLOËN, 1996).

Os adipócitos isolados foram colocados em tubos de polipropileno (100.000 células em 10µL de solução) com volume total de tampão ajustado para 1 mL. Os agonistas de

adrenoceptores foram adicionados de modo a se obter concentrações finais entre 0,1 nM e 100 μ M. Os tubos foram mantidos por 60 minutos em banho-maria a 37°C, sob agitação constante de 60 ciclos por minuto. A adição dos fármacos definiu o início dos ensaios.

Após 60 minutos de incubação com um dos agonistas de adrenoceptores, os tubos foram colocados em gelo moído, para interromper a reação. Alíquotas do meio de incubação foram utilizadas para a determinação enzimática da concentração de glicerol e de lactato no meio. Um par de amostras incubadas sem fármaco permitiu a determinação da liberação espontânea das substâncias a serem determinadas, consideradas como índice basal da atividade celular.

Os resultados foram expressos em curvas concentração-resposta, as quais foram determinadas plotando-se o logarítmo da concentração de agonista *versus* a quantidade de glicerol ou lactato liberado, após subtração da liberação basal. Em cada curva concentração-resposta foi calculada a concentração de agonista que induziu 50% da lipólise máxima (EC_{50}). Esta foi expressa como logaritmo negativo (pD_2).

3.6. Determinação da Concentração de Glicerol e de Lactato no Meio de Incubação de Adipócitos

A concentração plasmática de glicerol presente em alíquotas de 10 μ L do meio de incubação dos adipócitos foi determinada utilizando coquetel enzimático. As amostras foram submetidas à leitura em espectrofotômetro, em comprimento de onda de 540 nm. A concentração de glicerol no meio de incubação foi expressa em μ mol de glicerol em 10^6 células/60 minutos (VERAGO *et al.*, 2001).

Para a determinação da concentração de lactato no meio de incubação dos adipócitos, foi utilizado *kit* enzimático marca “Trinity Biotech” (St. Louis, MO, EUA). As amostras foram submetidas à determinação em aparelho leitor de ELISA, em comprimento de onda de 540 nm. A concentração de lactato foi expressa em μmol de lactato em 10^6 células/60 minutos.

3.7. Determinação da Glicemia

A determinação da concentração plasmática de glicose foi realizada pelo método da glicose oxidase, utilizando-se *kit* enzimático (Laborlab Ltda, Guarulhos, SP, Brasil). As amostras foram submetidas à leitura em espectrofotômetro, em comprimento de onda de 505 nm. Em experimentos anteriores feitos neste laboratório, verificou-se que congelar o plasma para posterior análise não altera o resultado em comparação à leitura realizada logo após a coleta. A concentração de glicose na amostra foi expressa em mg/dL (VERAGO *et al.*, 2001).

3.8. Determinação da Concentração Sanguínea de Lactato

A determinação da concentração sanguínea de lactato foi determinada por reflexão fotométrica em um lactímetro (ACCUSPORTS, tipo 1488767, Boehringer, Mannheim, Alemanha). A cauda dos animais conscientes foi lancetada e uma gota de sangue foi transferida para uma fita de lactato-BM (Roche Diagnostics GmbH, D-68298; Mannheim, Alemanha). A concentração sanguínea de lactato foi expressa em mmol/L (SAMPAIO-BARROS, *et al.*, 2003).

3.9. Determinação da Concentração Plasmática de Corticosterona, Ácidos Graxos Livres e de Glicerol

A concentração de corticosterona foi determinada pela técnica de ensaio imunoenzimático (EIA) utilizando-se *kit* comercial da marca “Assay Designs” (Ann Arbor, MI, EUA). Os coeficientes de variação intra e interensaio foram de 6,6% e 7,8%, respectivamente.

A concentração plasmática de ácidos graxos livres foi determinada utilizando *kit* enzimático “Wako NEFA C” (Wako Chemicals GmbH, Neuss, Alemanha) e a de glicerol foi determinada pelo *kit* enzimático da Laborlab Ltda (Guarulhos, SP, Brasil).

3.10. Determinação da Concentração Muscular e Hepática de Glicogênio

Para a determinação do conteúdo de glicogênio, foi utilizado o protocolo de Lo *et al.* (1970), com pequenas modificações (SAMPAIO-BARROS, *et al.*, 2003). As amostras analisadas foram o tecido hepático (aproximadamente 5g) e tecidos musculares cardíaco e esquelético (aproximadamente 2 g). Após a pesagem dos tecidos, os mesmos foram imersos em tubos de ensaio com 30% KOH (fígado = 2 mL e músculos = 1 mL) e colocados em banho fervente para digestão. Após o período de digestão foi adicionado Na₂SO₄ saturado (fígado = 200µL e músculos = 100µL). Foram adicionados 7 mL e 3,5 mL (fígado e músculos, respectivamente) de etanol (95%) para precipitar o glicogênio da digestão alcalina. As amostras foram centrifugadas e os sobrenadantes foram aspirados. Os *pellets* foram dissolvidos com água destilada. O conteúdo dissolvido foi transferido para outro tubo, contendo fenol (5%), 50 µL e 200 µL (fígado e músculos, respectivamente) e H₂SO₄ (2,5 mL). A absorbância foi lida em espectrofotômetro Beckman DU[®] - 640 (Fullerton, CA,

EUA) em comprimento de onda de 490 nm e os resultados foram expressos em mg de glicogênio/100 mg de tecido.

3.11. Análise Estatística

Todos os resultados foram expressos como médias $\pm$ erro padrão da média (EPM).

Para a comparação dos valores relativos ao peso corporal, antes da primeira e da terceira sessões de estresse, foi utilizada Análise de Variância Bifatorial com os fatores grupos (controle, 18°C, 24°C e 35°C) e sessão (primeira, terceira).

Os demais dados foram comparados por Análise de Variância (ANOVA) seguida do teste exato de Fisher. Diferenças foram consideradas significantes quando $p < 0,05$. A análise estatística foi feita utilizando-se o programa Systat Software (Systat Software, Inc., EUA).

4. RESULTADOS

O peso corporal dos ratos dos quatro grupos não apresentou diferença estatisticamente significativa, antes da primeira ou da terceira sessão de natação (Tabela 1). A temperatura corporal em ratos controle foi igual a $37,2 \pm 0,12^{\circ}\text{C}$. A natação a 35°C não alterou significativamente a temperatura corporal dos ratos ($36,7 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$). Entretanto, após natação em temperaturas de 24°C e 18°C os ratos apresentaram hipotermia ($30,7 \pm 0,7^{\circ}\text{C}$ e $24,0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, respectivamente, $p < 0,05$ em relação ao grupo controle e 35°C). O grau de hipotermia foi inversamente proporcional à temperatura da água.

A concentração plasmática de corticosterona, medida após a terceira sessão de natação, apresentou uma elevação significativa nos três grupos natação em relação ao controle, e foi significativamente maior nos grupos que nadaram a 24°C e 18°C também em relação ao grupo que nadou a 35°C (Tabela 2 e Figura 1).

A glicemia não foi significativamente diferente entre os grupos de ratos submetidos à natação ou entre estes e os ratos controle. Entretanto, as concentrações sanguíneas de lactato e de ácidos graxos livres, medidas após a terceira sessão de natação, foram mais altas nos ratos submetidos à natação do que nos ratos do grupo controle, mas não houve diferença entre os grupos de ratos submetidos à natação. Não houve diferença estatisticamente significativa na concentração plasmática de glicerol entre os grupos (Tabela 2).

A concentração de glicogênio das amostras hepáticas, cardíacas e do músculo sóleo de ratos submetidos à natação não diferiu significativamente do grupo controle. Entretanto, a concentração de glicogênio nas porções branca e vermelha do músculo gastrocnêmio estava reduzida após natação (Tabela 3).

Em adipócitos isolados de ratos submetidos à natação houve aumento da liberação basal de glicerol (Tabela 4 e Figura 2), mas as respostas ao d-butilil-AMPC, à noradrenalina e à adrenalina, assim como a sensibilidade às duas catecolaminas, não diferiu significativamente do controle (Tabelas 4 e 5). Na Figura 3 são apresentadas as curvas concentração-resposta à noradrenalina e à adrenalina obtidas em adipócitos de ratos submetidos à natação em diferentes temperaturas, nas quais a lipólise é medida pela concentração de glicerol no meio de incubação. Não houve diferenças entre os grupos.

A produção basal de lactato pelos adipócitos foi significativamente maior em adipócitos isolados de ratos submetidos à natação do que em ratos controle (Tabela 6 e Figura 4). Foi possível demonstrar liberação de lactato em resposta às catecolaminas, por adipócitos isolados de ratos controle e de ratos submetidos à natação (Tabela 6). Nas figuras 5 (1) e 7 (1) observamos que ambas as catecolaminas causam um efeito bifásico na resposta glicolítica. Em concentrações na faixa nanomolar estas estimulam a glicólise de modo concentração-dependente, representada pela fase ascendente das curvas concentração-resposta. Em concentrações de noradrenalina e adrenalina maiores que 10^{-8}M estas passam a inibir a glicólise também de modo concentração-dependente, chegando a inibir completamente a resposta. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos.

As figuras 6 e 8 ilustram as curvas de liberação de lactato em resposta à noradrenalina e à adrenalina, respectivamente, em adipócitos isolados de ratos controle e de ratos submetidos à natação em três temperaturas diferentes separadamente para melhor visualização dos grupos. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos (Tabela 6).

As respostas lipolíticas e glicolíticas às catecolaminas são apresentadas juntas nas Figuras 9 (noradrenalina) e 10 (adrenalina). Pode-se observar que a liberação de lactato pelos adipócitos ocorre em resposta a concentrações nanomolares de noradrenalina ou adrenalina, nas quais a resposta lipolítica não é estimulada. Em concentrações acima de 10 nM, que estimulam a lipólise, ocorre inibição da liberação de lactato pelos adipócitos de ratos controle e de ratos submetidos a estresse por natação.

Tabela 1. Peso corporal (g) de ratos controle e de ratos antes da primeira e da terceira sessões de natação (5, 15, 15 min) em água à temperatura de 18°C, 24°C ou 35°C, e temperatura retal (°C) após a terceira sessão de natação.

	controle	35°C	24°C	18°C
Peso	318 ± 10	338 ± 4	327 ± 6	316 ± 20
antes da 1ª sessão	(8)	(5)	(5)	(5)
Peso	318 ± 10	341 ± 7	327 ± 7	317 ± 20
antes da 3ª sessão	(8)	(5)	(5)	(5)
Temperatura após a 3ª sessão	37,2 ± 0,12	36,7 ± 0,2	30,7 ± 0,66*	24,0 ± 0,5* [#]
	(5)	(5)	(5)	(5)

Os dados são médias seguidas do erro padrão da média do número de experimentos indicado entre parênteses. * indica diferença estatisticamente significativa em relação aos demais grupos. [#] indica diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo 24°C (p<0,05; ANOVA seguida de teste de Fisher).

Tabela 2. Concentrações sanguíneas de corticosterona (plasma), lactato (sangüíneo), glicose (plasma), ácidos graxos livres (plasma) e glicerol (plasma) em ratos controle e em ratos submetidos a três sessões de natação (5, 15 e 15 min) em água à temperatura de 18°C, 24°C ou 35°C.

	controle	35°C	24°C	18°C
Corticosterona	57,2 ± 10,0	166,25 ± 11,8*	289,53 ± 27,1* [#]	294,74 ± 17,9* [#]
(ng/mL)	(4)	(4)	(4)	(4)
Lactato	1,82 ± 0,25	3,70 ± 0,31*	4,02 ± 0,44*	4,40 ± 0,34*
(mmol/L)	(5)	(5)	(5)	(9)
Glicose	118,8 ± 7,1	140,1 ± 5,6	138,0 ± 9,1	112,3 ± 10,8
(mg/dL)	(6)	(5)	(5)	(9)
Ácidos Graxos	0,56 ± 0,07	1,55 ± 0,21*	1,62 ± 0,23*	1,70 ± 0,20*
(nmol/L)	(7)	(5)	(5)	(5)
Glicerol	7,57 ± 1,43	9,56 ± 1,50	9,37 ± 0,90	9,35 ± 0,67
(mmol/L)	(6)	(6)	(7)	(6)

Os dados são médias seguidas do erro padrão da média do número de experimentos indicado entre parênteses. * indica diferença estatisticamente significativa em relação ao controle (p<0,05; ANOVA seguida de teste de Fisher). [#] indica diferença estatisticamente significativa comparado com o grupo de ratos que nadou a 35°C (ANOVA seguida de teste de Fisher).

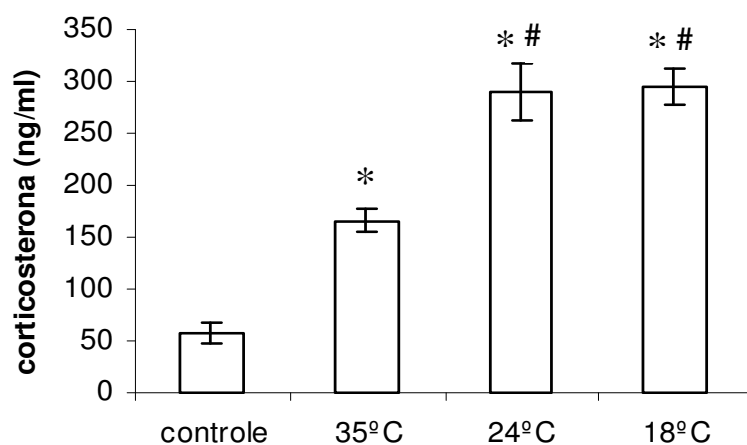


Figura 1 – Concentração plasmática de corticosterona de ratos controle e de ratos submetidos a três sessões de natação em água à temperatura de 35°C, 24°C ou 18°C. * indica diferença estatisticamente significativa em relação ao controle; # indica diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo 35°C ($p < 0,05$, ANOVA seguido de teste de Fisher).

Tabela 3. Concentração de glicogênio (mg/100mg de tecido) hepático e muscular de ratos controle e de ratos submetidos a três sessões de natação (5, 15 e 15 min) em água à temperatura de 18°C, 24°C ou 35°C. Os tecidos musculares analisados foram sóleo, ventrículo cardíaco e gastrocnêmios [porções branca (GB) e vermelha (GV)].

	controle	35°C	24°C	18°C
Fígado	5,21 ± 0,80 (7)	6,58 ± 1,04 (5)	5,99 ± 0,49 (5)	5,59 ± 0,39 (10)
Sóleo	0,37 ± 0,06 (7)	0,37 ± 0,10 (5)	0,36 ± 0,04 (5)	0,39 ± 0,03 (10)
GB	0,59 ± 0,05 (11)	0,38 ± 0,10* (5)	0,39 ± 0,04* (4)	0,28 ± 0,04* (10)
GV	0,43 ± 0,06 (11)	0,26 ± 0,08* (5)	0,16 ± 0,03* (5)	0,17 ± 0,03* (10)
Ventrículo	0,25±0,04 (12)	0,26±0,07 (4)	0,23±0,06 (5)	0,31±0,05 (10)

Os dados são médias seguidas do erro padrão da média do número de experimentos indicado entre parênteses. * indica diferença estatisticamente significativa em relação ao controle (p<0,05; ANOVA seguida de teste de Fisher).

Tabela 4. Liberação basal e estimulada por d-butil AMPc (1 mM) de glicerol (μmol glicerol em 10^6 células/60 min) em adipócitos epididimais isolados de ratos controle e de ratos submetidos a três sessões de natação (5, 15 e 15 min) em água à temperatura de 18°C, 24°C ou 35°C.

	controle	35°C	24°C	18°C
Basal	$0,55 \pm 0,13$ (5)	$1,17 \pm 0,22^*$ (7)	$1,20 \pm 0,04^*$ (5)	$1,48 \pm 0,05^*$ (6)
d-butil AMPc	$1,00 \pm 0,39$ (5)	$1,24 \pm 0,18$ (6)	$1,34 \pm 0,09$ (5)	$1,37 \pm 0,16$ (5)

Os dados são médias seguidas do erro padrão da média do número de experimentos indicado entre parênteses. * indica diferença estatisticamente significativa em relação ao controle ($p < 0,05$; ANOVA seguida de teste de Fisher).

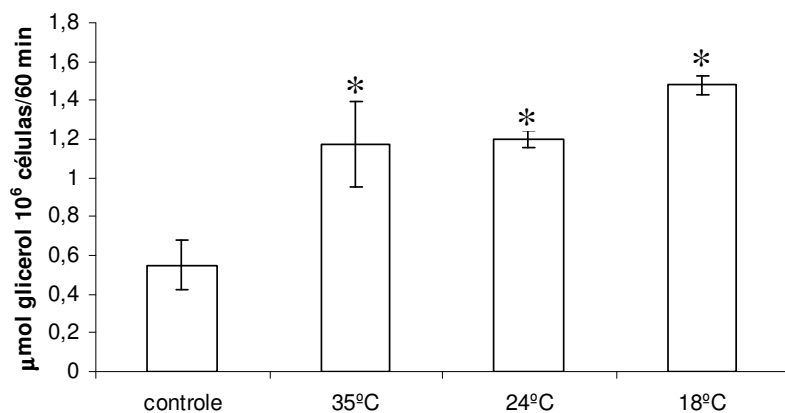


Figura 2. Liberação espontânea de glicerol por adipócitos epididimais isolados de ratos submetidos à natação em diferentes temperaturas. *indica diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo controle ($p < 0,05$, ANOVA seguida de teste de Fisher).

Tabela 5. Valores pD_2 e resposta máxima (RM) (μmol glicerol em 10^6 células/60 min) à adrenalina e noradrenalina em adipócitos epididimais isolados de ratos controle e de ratos submetidos a três sessões de natação (5, 15 e 15 min) em água à temperatura de 18°C, 24°C ou 35°C.

	controle	35°C	24°C	18°C
noradrenalina				
pD_2	$6,62 \pm 0,58$	$6,38 \pm 0,55$	$7,06 \pm 0,20$	$6,42 \pm 0,22$
	(5)	(5)	(5)	(6)
RM	$1,30 \pm 0,44$	$0,93 \pm 0,18$	$0,80 \pm 0,24$	$0,83 \pm 0,08$
	(5)	(5)	(5)	(6)
adrenalina				
pD_2	$5,63 \pm 0,32$	$6,07 \pm 0,28$	$6,42 \pm 0,30$	$6,32 \pm 0,49$
	(5)	(5)	(5)	(7)
RM	$1,19 \pm 0,34$	$1,09 \pm 0,18$	$0,96 \pm 0,30$	$1,09 \pm 0,22$
	(5)	(7)	(5)	(7)

Os dados são médias seguidas do erro padrão da média do número de experimentos indicado entre parênteses. (ANOVA).

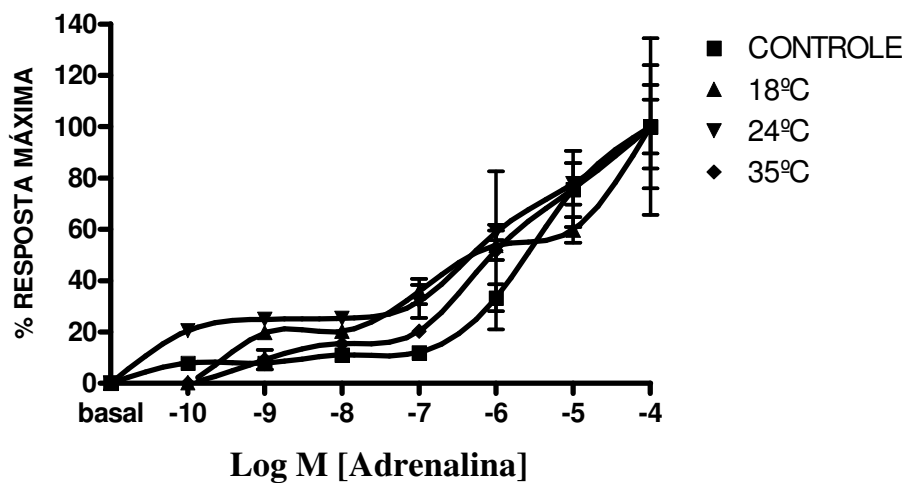
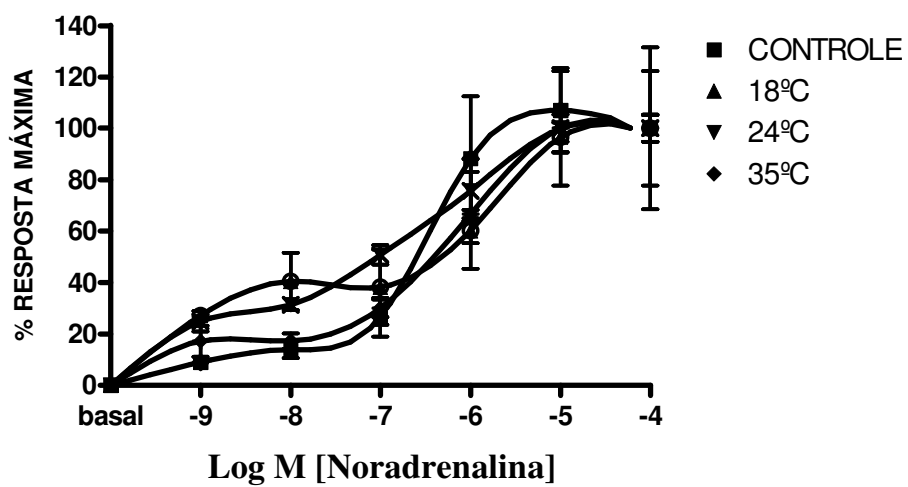


Figura 3. Liberação de glicerol em resposta à noradrenalina e à adrenalina em adipócitos epididimais isolados de ratos submetidos à natação em diferentes temperaturas.

Tabela 6. Liberação espontânea (basal) de lactato e resposta máxima (RM) (μmol lactato em 10^6 células/60 min) à noradrenalina e adrenalina em adipócitos epididimais isolados de ratos controle e de ratos submetidos a três sessões de natação (5, 15 e 15 min) em água à temperatura de 18°C, 24°C ou 35°C.

	controle	35°C	24°C	18°C
Basal	$0,06 \pm 0,01$	$0,16 \pm 0,03^*$	$0,18 \pm 0,03^*$	$0,17 \pm 0,03^*$
noradrenalina	$0,29 \pm 0,03$	$0,31 \pm 0,08$	$0,35 \pm 0,06$	$0,30 \pm 0,04$
adrenalina	$0,30 \pm 0,03$	$0,33 \pm 0,05$	$0,38 \pm 0,08$	$0,31 \pm 0,04$

* $p < 0,05$ comparado com o basal controle (ANOVA seguida de teste de Fisher).
O número de experimentos da amostra variou de 3 a 6 experimentos.

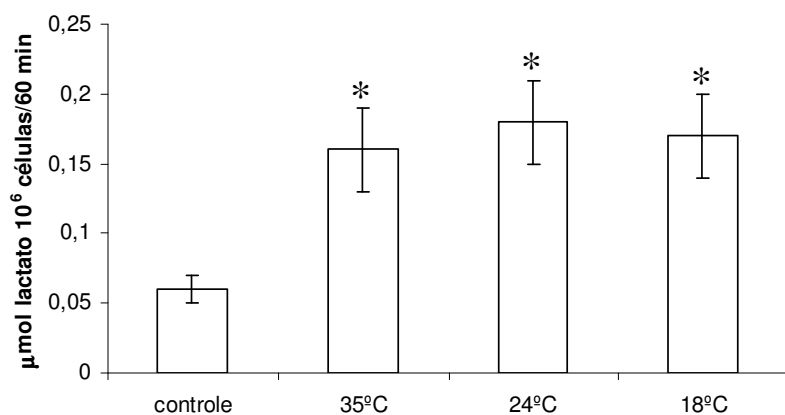


Figura 4. Liberação espontânea de lactato (glicólise basal) por adipócitos epididimais isolados de ratos submetidos à natação em diferentes temperaturas. *indica diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo controle ($p < 0,05$, ANOVA seguida de teste de Fisher).

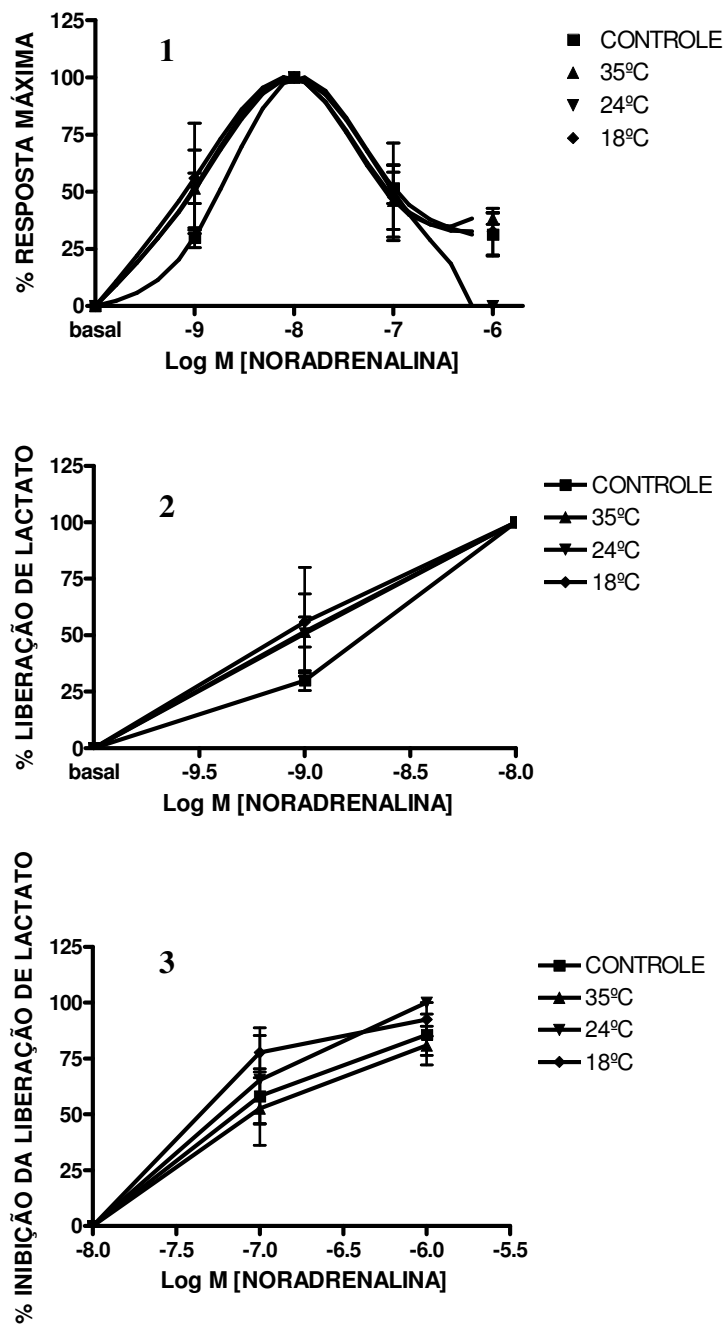


Figura 5. Curva em forma de sino da liberação de lactato em resposta à noradrenalina em adipócitos epididimais isolados de ratos submetidos à natação em diferentes temperaturas (1); fase estimulatória da secreção (2) e fase inibitória da secreção (3).

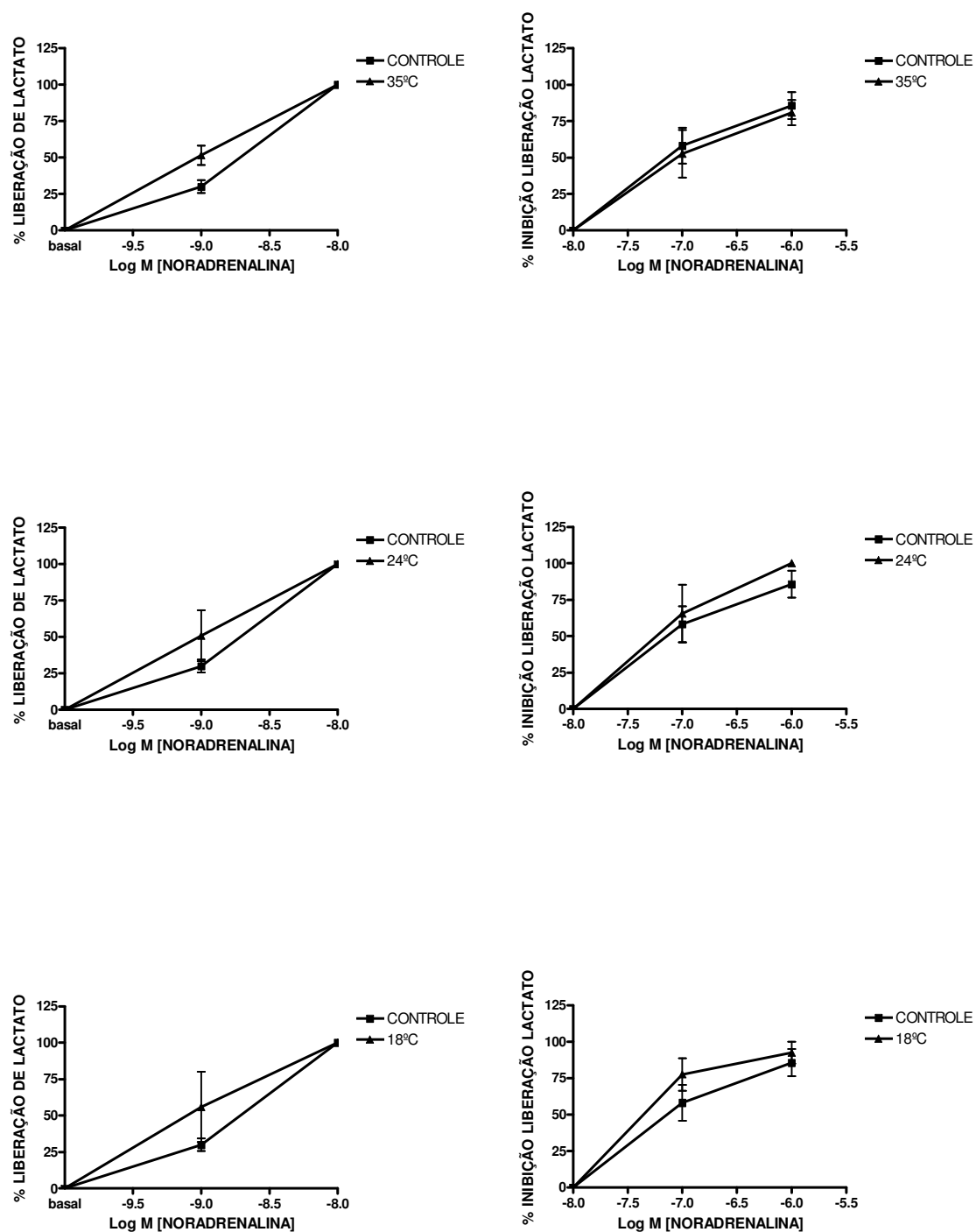


Figura 6. Porcentagem de liberação e de inibição da liberação de lactato em resposta à noradrenalina em adipócitos epididimais de ratos controle, comparados a adipócitos epididimais isolados de ratos submetidos à natação em diferentes temperaturas.

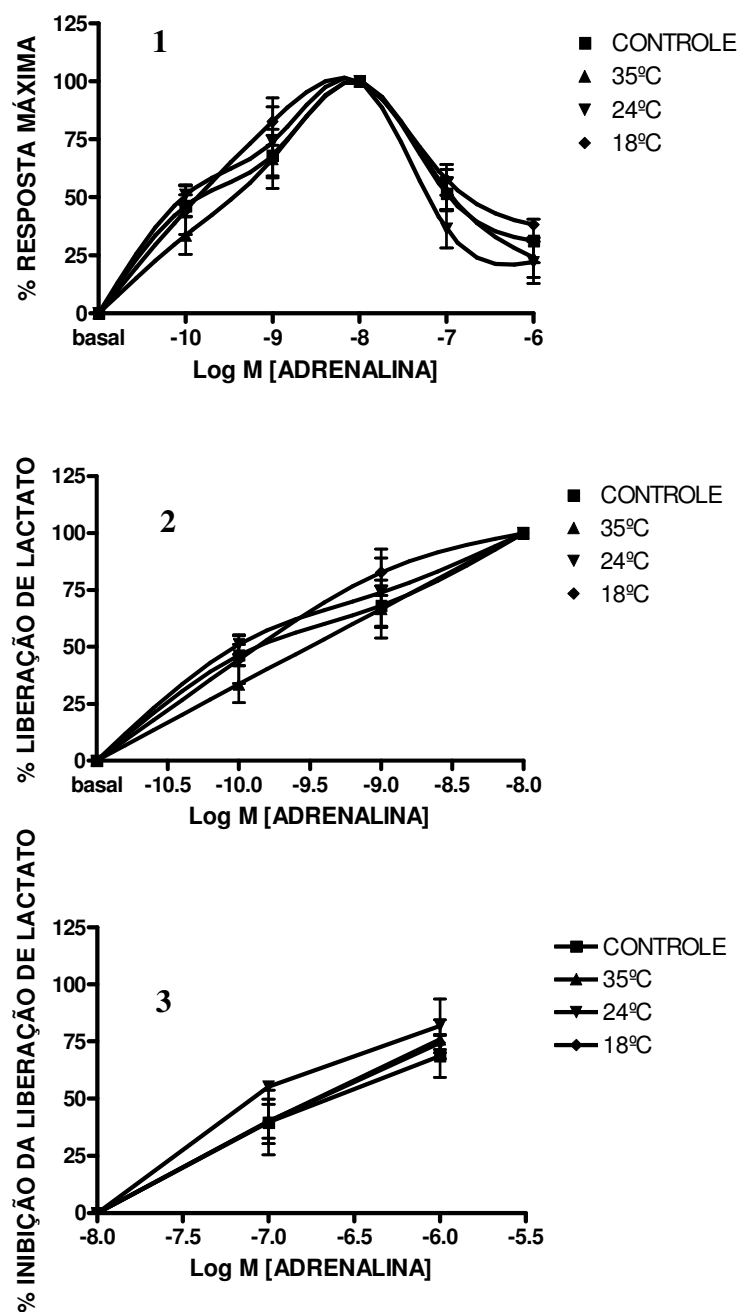


Figura 7. Curva em forma de sino da liberação de lactato em resposta à adrenalina em adipócitos epididimais isolados de ratos submetidos à natação em diferentes temperaturas (1); fase estimulatória da secreção (2) e fase inibitória da secreção (3).

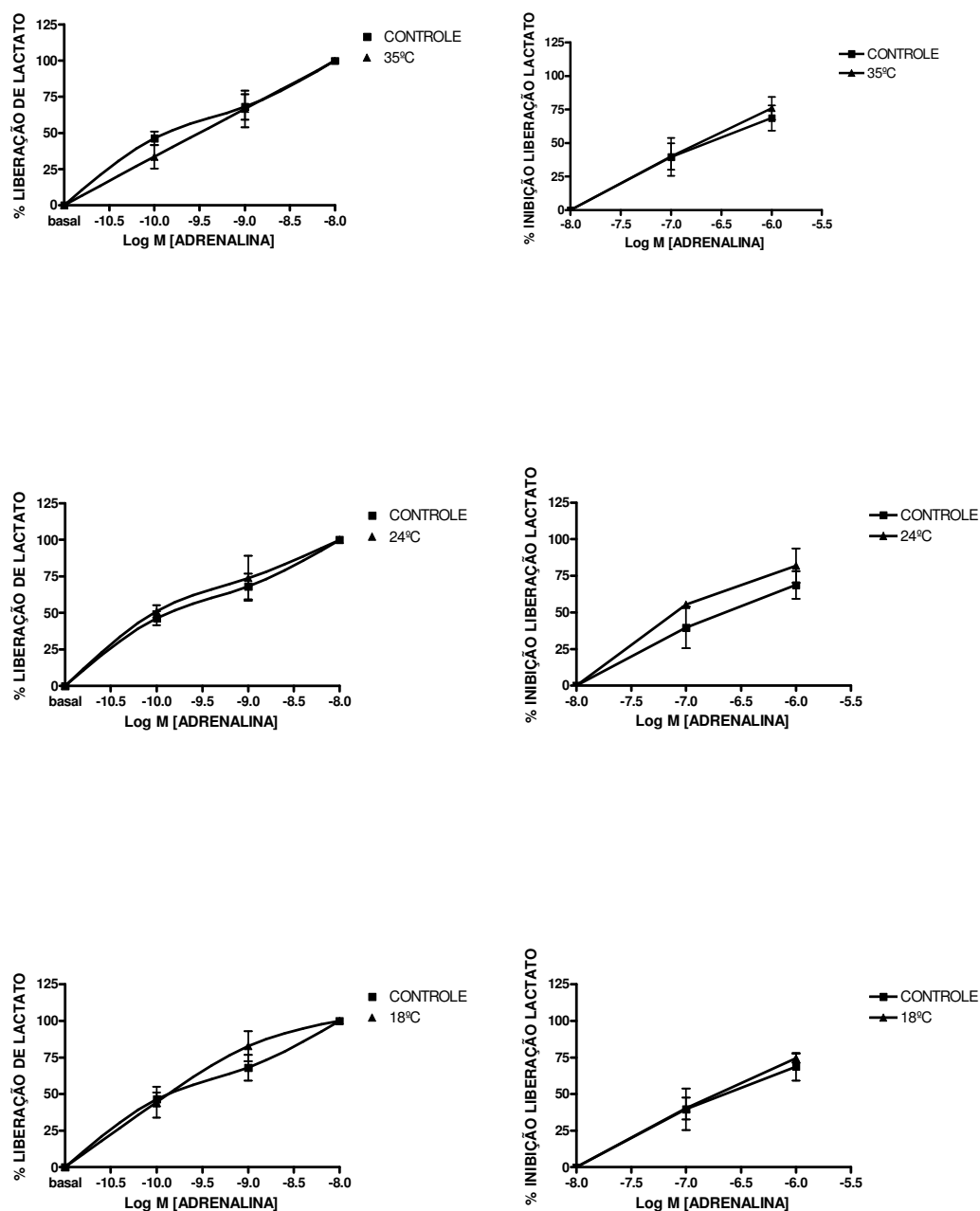


Figura 8. Porcentagem de liberação e de inibição da liberação de lactato em resposta à adrenalina em adipócitos epididimais de ratos controle, comparados a adipócitos epididimais isolados de ratos submetidos à natação em diferentes temperaturas.

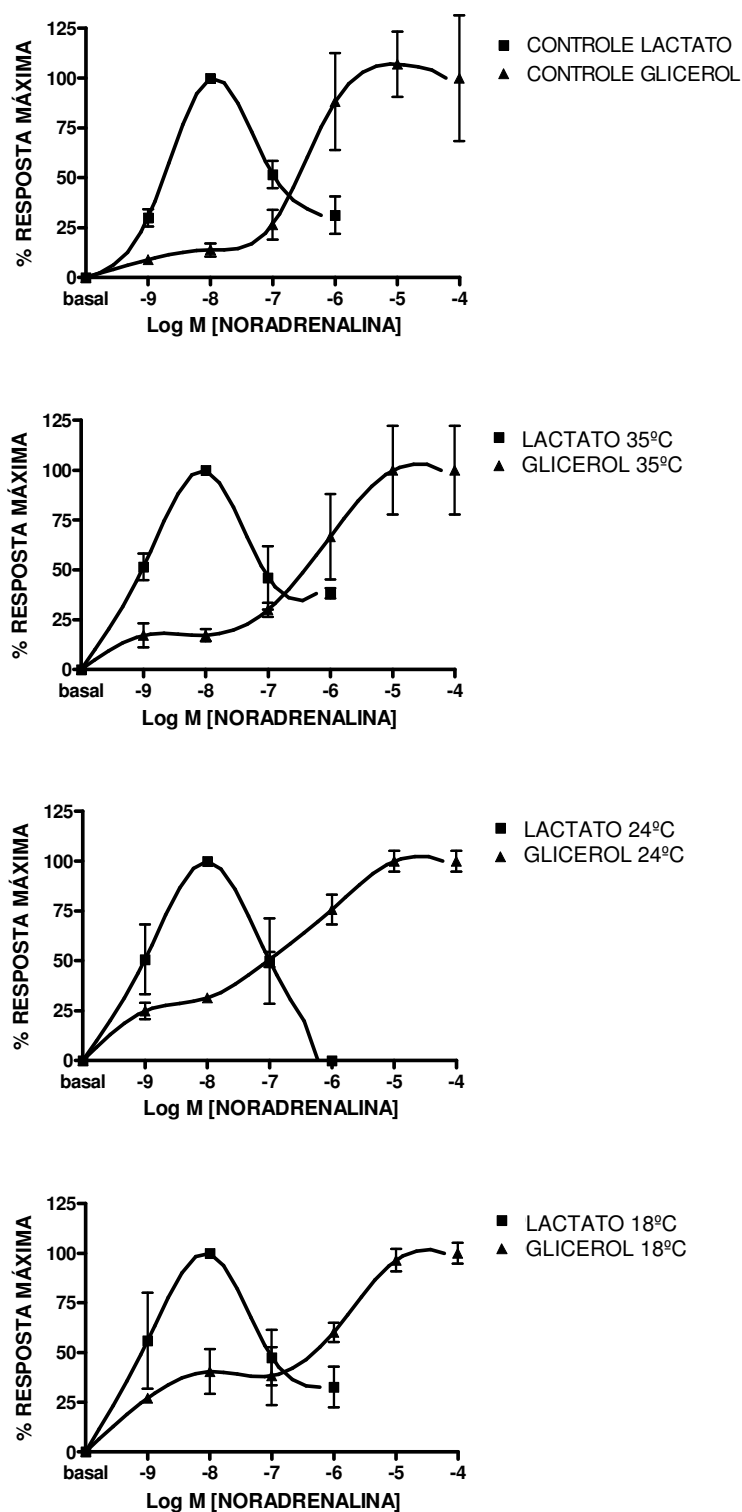


Figura 9. Comparação da liberação de glicerol e de lactato em resposta à noradrenalina em adipócitos epididimais isolados de ratos submetidos à natação em diferentes temperaturas.

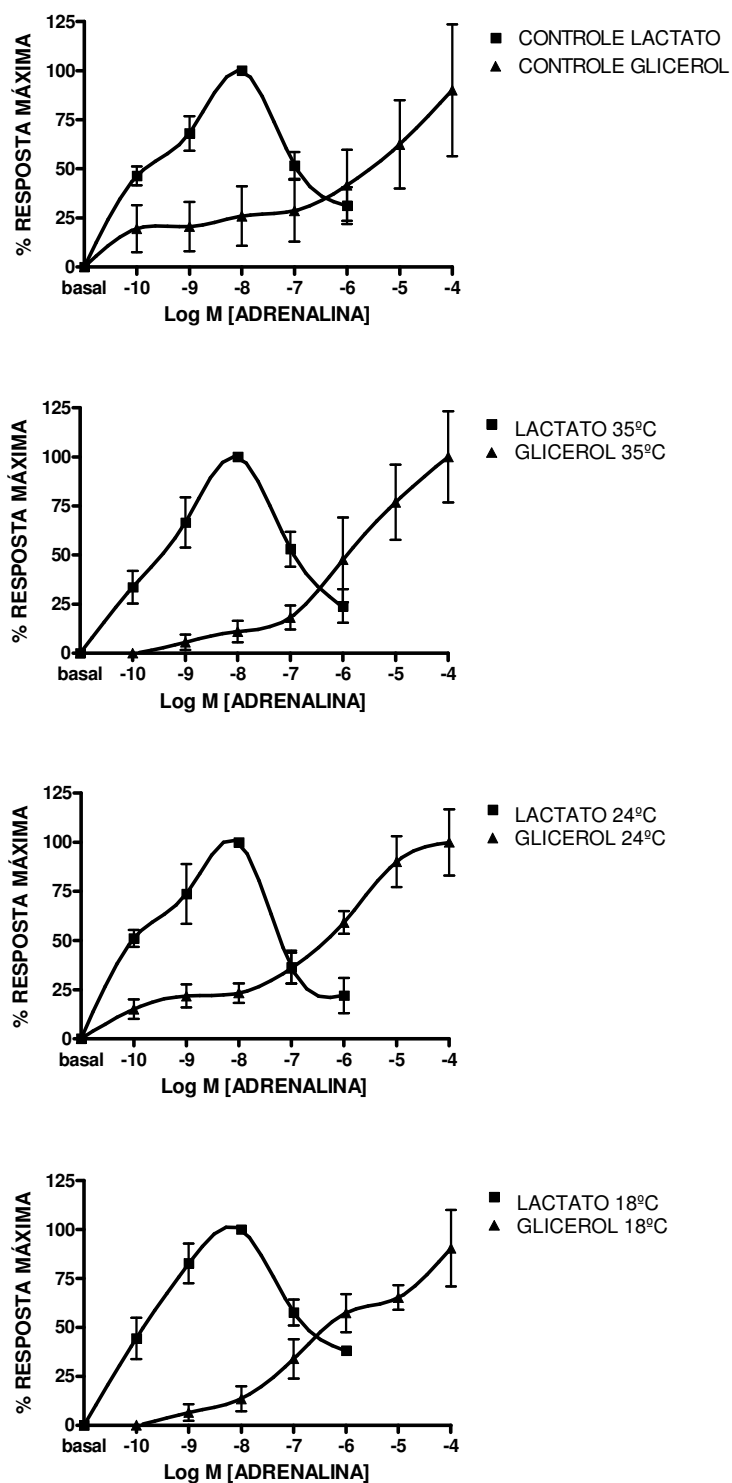


Figura 10. Comparação da liberação de glicerol e de lactato em resposta à adrenalina em adipócitos epididimais isolados de ratos submetidos à natação em diferentes temperaturas.

5. DISCUSSÃO

O objetivo deste trabalho consistiu em analisar se a resposta metabólica desencadeada por um agente estressor se correlaciona com sua intensidade. Para isso, foi escolhida a natação como agente estressor devido à facilidade de manipulação da intensidade. Esta atua como estressor físico e emocional para os ratos, cuja intensidade aumenta à medida que a temperatura da água diminui (KONARSKA *et al.*, 1990; DRUGAN *et al.*, 2005).

Durante as sessões de natação, os ratos exibiram movimentos vigorosos das patas, mantendo-se na superfície, propelindo o corpo na água e farejando as bordas do tanque, provavelmente na tentativa de encontrar uma saída. Alternativamente, permaneciam imóveis por períodos variáveis, o que era facilitado pela ausência de peso adicionado aos animais. A natação sem adição de peso é considerada um exercício de baixa intensidade (RYAN *et al.*, 1993). Entretanto, nas condições utilizadas neste trabalho, considerando-se que o tanque de natação tinha características e profundidade tais que não permitiam o apoio no fundo ou nas laterais, e que os ratos não estavam habituados a esta situação, este pode ser considerado um agente estressor de alta intensidade.

A intensidade de estresse por natação pode ser modificada por meio da manipulação de várias características do paradigma de estresse. Alguns autores consideram o estresse por natação em água profunda mais intenso se comparado com o teste de natação forçada, de acordo com o modelo proposto por Porsolt *et al.* (1978), devido à ameaça de afogamento que ocorre no primeiro, pelas dimensões dos compartimentos de natação e profundidade da água (CALIL e MARCONDES, 2006). A intensidade de estresse pode também ser determinada pela duração das sessões de natação e pela adição de pesos ao corpo dos

animais. Nós optamos por utilizar sessões de curta duração e diferentes temperaturas de água.

A concentração plasmática de corticosterona é aceita como um indicador da intensidade de estresse (DE BOER *et al.*, 1989; VAN DE KAR *et al.*, 1991; VERAGO *et al.*, 2001; CALIL e MARCONDES, 2006). Os resultados aqui apresentados mostraram que as concentrações plasmáticas de corticosterona aumentaram mais após três sessões de natação a 24°C e 18°C do que após 35°C e que estas eram mais altas do que a concentração plasmática de corticosterona em ratos controle, confirmando que a natação atua como agente estressor em ratos e que a intensidade é proporcional à diferença entre a temperatura da água e a temperatura corporal dos ratos, mas que a partir de 24°C não ocorre discriminação em relação a temperaturas mais baixas. Estes dados estão de acordo com aqueles apresentados por Drugan *et al.* (2005) e também Konarska *et al.* (1990), que verificaram o aumento de outros hormônios do estresse, corticosterona, adrenalina e noradrenalina, com diminuição da temperatura da água. Os dados do presente trabalho também indicam que o número de repetições não foi suficiente para induzir adaptação à natação, confirmando dados anteriores do nosso grupo de pesquisa (SAMPAIO-BARROS *et al.*, 2003) e que a diferença de 15 min na duração da última sessão empregada neste trabalho e o trabalho de Sampaio-Barros e colaboradores (2003) não resultou em diferenças significativas na concentração plasmática de corticosterona ($166,25 \pm 11,8$ vs. $187,15 \pm 10,9$ µg/dL) observadas em ratos submetidos à natação em água a 35°C (SPADARI e DeMORAES, 1988).

O peso corporal dos ratos não apresentou diferença significativa entre os grupos. Este fator é relevante já que uma diferença significativa poderia alterar alguns parâmetros

aqui estudados tais como a taxa de resfriamento corporal na natação em diferentes temperaturas de água (DAWSON *et al.*, 1970), ou a atividade lipolítica, uma vez que, com o aumento da massa adiposa altera-se a população de receptores envolvidos com o processo lipolítico, ocorrendo aumento de receptores do tipo α_2 -adrenérgico em relação aos receptores beta-adrenérgicos (TAOUIIS *et al.*, 1989). Desta forma, considerando-se que o peso corporal dos ratos não foi alterado pela natação, qualquer alteração observada na atividade lipolítica ou glicolítica dos adipócitos destes animais poderá ser atribuída aos efeitos dos hormônios do estresse. Alterações no peso corporal foram descritas em ratos submetidos a sessões de 2 a 3 horas de duração por 7 a 11 semanas, em associação com restrição alimentar (BUKOWIECKI *et al.*, 1980; WALBERG *et al.*, 1983; WILMORE, 1983).

Ratos que foram submetidos à natação em água a 18°C e 24°C apresentaram hipotermia intensa, proporcional à diferença entre a temperatura da água e a temperatura corporal. Estes dados sugerem que o calor produzido pelo exercício físico não foi suficiente para superar a influência da alta condutividade da água e do mecanismo de convecção devido ao movimento do animal, durante a natação, que colaboram com a perda de calor corporal (DAWSON *et al.*, 1970). Além disso, nessa situação a termogênese por tremor está inibida pelo trabalho muscular da natação (HART e JANSKY, 1963). Também não foi eficiente o outro mecanismo de aquecimento corporal conhecido por termogênese sem tremor, que é executado pelo tecido adiposo marrom. Este tecido produz calor corporal por meio de uma via alternativa de dissipação do gradiente eletroquímico de prótons mitocondriais (TRAYHURN, 1979; HIMMIS-HAGENS, 1990; SELL *et al.*, 2004), efetuado por proteínas conhecidas como proteínas desacopladoras ou termogeninas (UCP's,

Uncoupling Proteins) (COLLINS *et al.*, 2001; MARKEN LICHTENBELT e DAANEN, 2003; CANNON e NEDERGAARD, 2004). Em ratos submetidos à natação em temperaturas baixas, é provável que este mecanismo esteja ativo, pois ele responde ao sistema nervoso simpático noradrenérgico (BUKOWIECKI *et al.*, 1981; GÉLOËN *et al.*, 1992; COLLINS *et al.*, 2001; CANNON e NEDERGAARD, 2004) e ao hormônio triiodotironina (T₃) (SILVA, 2001), ambos ativos naquela situação. Os mecanismos de manutenção da temperatura corporal não foram estudados, uma vez que o objetivo principal deste trabalho consistiu em verificar as alterações metabólicas energéticas, as quais são relacionadas ao tecido adiposo branco, que sintetiza e armazena triacilgliceróis, capta e metaboliza glicose, além de disponibilizar ácidos graxos, glicerol e lactato para os outros tecidos (DIGIROLAMO *et al.*, 1992). A hipotermia observada nos ratos utilizados neste trabalho parece ter sido mais intensa que aquela observada por Drugan *et al.* (2005) que utilizou um paradigma diferente, mas temperaturas de água semelhantes às aqui empregadas e ratos da cepa Sprague Dawley enquanto que nós utilizamos ratos Wistar. Além disso, aqueles autores mediram a temperatura corporal dos ratos por meio de um dispositivo implantado cronicamente na cavidade abdominal dos ratos, enquanto que nós medimos a temperatura retal dos ratos por meio de um tele-termômetro.

A manutenção da glicemia é um dos aspectos mais importantes do metabolismo, uma vez que a glicose é o principal substrato energético utilizado pelas células nervosas na maioria das situações (CORSSMIT *et al.*, 2001). O mecanismo protetor de manutenção da glicemia é, portanto, extremamente eficiente, sendo coordenado pelo fígado, e conhecido por glicogenólise. Quando esse processo não é suficiente e a glicemia tende a diminuir, ocorre o processo conhecido como gliconeogênese, que continua a disponibilizar glicose do fígado para a correção da glicemia (RYAN *et al.*, 1993). Em geral a glicemia não diminui

durante a primeira hora de exercício físico moderado a intenso (STANLEY e CONNETT, 1991; RYAN *et al.*, 1993). Os dados aqui apresentados são coerentes com esta observação, uma vez que não houve alteração da glicemia em ratos submetidos à natação, em relação ao grupo controle. A concentração hepática de glicogênio não apresentou alteração, o que poderia ser devido a aumento no *turnover* hepático de glicose proporcionado pela provável abundância de substratos gliconeogênicos (lactato e glicerol).

O aumento na concentração plasmática de lactato nos ratos submetidos à natação revela, entretanto, que houve metabolização da glicose, uma vez que o produto final da via glicolítica é o ânion lactato (HALESTRAP e PRICE, 1999). Este, uma vez produzido, é transportado através da membrana plasmática pelos MCT's (*monocarboxylate transporters*), para a corrente sanguínea (JUEL e HALESTRAP, 1999; HALESTRAP e PRICE, 1999). A fonte de lactato pode ter sido o metabolismo muscular ou sua produção pelos adipócitos. Embora a natação seja considerada um exercício predominantemente aeróbico, as condições impostas neste trabalho podem ter assumido características anaeróbicas, devido ao estresse psicológico, por causa da iminência de morte, e à necessidade de movimentar as patas para manter a cabeça fora da água, solicitando intensamente os músculos envolvidos. Além disso, a captação de glicose pelos adipócitos e a conseqüente produção e liberação de lactato pelo tecido adiposo requer a presença de insulina que apresenta baixa concentração plasmática durante exercício físico, embora esta também possa ser estimulada pelas catecolaminas, via receptores α_1 -adrenérgicos (FAINTRENIE e GÉLOËN, 1998; CHENG *et al.*, 2000). Ademais, os resultados mostraram que houve depleção dos estoques de glicogênio no músculo gastrocnêmio dos ratos submetidos à natação, sugerindo que os músculos ativos parecem ter sido a principal

fonte de lactato. O aumento da concentração sérica de ácidos graxos livres reforça esta hipótese, uma vez que estes substratos energéticos somente são utilizados pelos músculos em condição de aerobiose. E, portanto, seu aumento no plasma sugere que estes não estão sendo utilizados na condição experimental imposta neste trabalho.

A porção vermelha do músculo gastrocnêmio contém fibras do tipo IIa, que são as fibras musculares intermediárias entre as fibras de contração lenta (tipo I) e rápidas (tipo IIb). Essas fibras intermediárias podem aumentar a sua capacidade oxidativa com o treinamento (BONEN *et al.*, 1990; PETTE e STARON, 1990). A porção branca do gastrocnêmio apresenta fibras do tipo IIb que são puramente rápidas, assumindo um perfil de baixa resistência, pois possuem poucas mitocôndrias; como consequência, apresentam capacidade limitada para o metabolismo aeróbio (McLANE e HOLLOSZY, 1979; PETTE e SPAMER, 1986). Em ambas as porções deste músculo ocorreu diminuição da concentração de glicogênio, indicando que este foi utilizado como fonte energética. O músculo sóleo possui características histoquímicas diferentes do músculo gastrocnêmio. No sóleo predominam fibras musculares do tipo I, as quais exibem grandes mitocôndrias e alta concentração de mioglobinas, além de ser densamente irrigado por capilares sanguíneos, diferenciando-o em músculo resistente à fadiga, graças à alta capacidade oxidativa (BOTTINELLI *et al.*, 1994). Esse músculo é requerido para a manutenção da postura (BASSEL-DUBY e OLSON, 2006). Devido a essas características, apresenta pequena ou nenhuma solicitação em exercício de curta duração, como aquele utilizado neste trabalho, o que justifica a ausência de alterações no conteúdo de glicogênio deste músculo.

Outro fator que, poderia ter contribuído para o aumento na concentração plasmática de lactato seria a produção aumentada de lactato pelos adipócitos. Adrenoceptores do subtipo α_1 , presentes na membrana plasmática dos adipócitos estimulam a captação de

glicose por estas células (FAINTRENIE e GÉLOËN, 1998; CHENG *et al.*, 2000). A glicose, uma vez captada, é metabolizada dando origem ao lactato (FAINTRENIE e GÉLOËN, 1995). O lactato produzido é transportado para a corrente sanguínea, uma vez que as células adiposas apresentam MCT's, como ocorre nas células do tecido muscular esquelético (HAJDUCH *et al.*, 2000). Entretanto, nos ratos submetidos a estresse, provavelmente a concentração plasmática de catecolaminas está aumentada, e estas aumentam a produção intracelular de AMPc, ao estimularem receptores β -adrenérgicos presentes na membrana plasmática de adipócitos. O aumento da concentração intracelular de AMPc inibe a captação e a metabolização de glicose, como foi demonstrado por Taylor *et al.* (1976) e confirmado pelos resultados aqui apresentados em adipócitos isolados de ratos. Portanto, embora adipócitos isolados de ratos submetidos à natação apresentem aumento na liberação basal de lactato, é provável que a contribuição *in vivo* do tecido adiposo branco, para o aumento da lactatemia, seja irrelevante, quando se leva em conta o ambiente hormonal endógeno vigente no estresse.

A lipólise basal estava aumentada em adipócitos de ratos submetidos à natação, confirmando dados anteriores (FARIAS-SILVA *et al.*, 1999; SAMPAIO-BARROS *et al.*, 2003). Entretanto, a ausência de alterações na concentração plasmática de glicerol se justifica por sua alta velocidade de captação (ALEMOHAMMAD e KNOWLES, 1974; HELLER *et al.*, 1980; LU *et al.*, 2003), de tal forma que o *turnover* de glicerol somente é limitado pela sua disponibilidade e pela atividade da glicerol-quinase, a enzima que fosforila o glicerol a glicerol-3-fosfato, um importante intermediário metabólico (BRISSON *et al.*, 2001). Esta mesma enzima também modula a difusão facilitada do glicerol pelas aquagliceroporinas (AGRE *et al.*, 1998; JENSEN *et al.*, 2002). Os principais

órgãos captadores de glicerol são o fígado (LIN, 1977) e os rins, que apresentam alta concentração de glicerol-quinase (GUO e JENSEN, 1999; BRISSON *et al.*, 2001), além da mucosa intestinal, do tecido adiposo e dos músculos cardíacos e esqueléticos (BRISSON *et al.*, 2001, FOREST *et al.*, 2003).

O aumento dos índices basais de lipólise e de glicólise observado após natação, pode ser atribuído à elevação no metabolismo basal que garante a recuperação após esforço de alta intensidade (GILLETTE *et al.*, 1994; PHELAIN *et al.*, 1997; KUO *et al.*, 2005).

A lipólise máxima induzida por d-butilil-AMPC foi similar em adipócitos isolados de ratos submetidos à natação e de ratos controle. Este resultado indica que não houve alterações na maquinaria intracelular protéica e enzimática relacionada à lipólise. A sensibilidade da resposta lipolítica aos agonistas adrenérgicos também não se alterou em adipócitos de ratos submetidos a qualquer dos protocolos de natação utilizados neste trabalho. Aumento na sensibilidade de adipócitos ao agonista lipolítico adrenalina foi constatado em adipócitos isolados de ratos submetidos a estresse por choque nas patas (FARIAS-SILVA *et al.*, 1999). Esta supersensibilidade à adrenalina foi associada a *up-regulation* dos receptores β_2 -adrenérgicos, confirmada com ensaios de *western blotting* (FARIAS-SILVA *et al.*, 2004). Sampaio-Barros *et al.* (2003) também relataram aumento de sensibilidade à adrenalina em adipócitos isolados de ratos submetidos a uma sessão de natação de 60 minutos ou 3 sessões de 5, 15 e 30 minutos, respectivamente. Os dados aqui apresentados mostraram que a sensibilidade à adrenalina não se alterou em adipócitos de ratos submetidos a três sessões de natação de 5, 15 e 15 min. Talvez o aumento do número de animais seja necessário para estabelecer a significância estatística, ou o aumento da duração da última sessão seja o fator determinante desta diferença.

A liberação espontânea de lactato por adipócitos isolados de ratos submetidos à natação também se mostrou elevada em relação a adipócitos de ratos controle. Entretanto, não houve diferença da liberação de lactato estimulada por noradrenalina ou adrenalina. Esta apresenta característica bifásica, ocorrendo aumento da liberação de lactato concentração-dependente na faixa nanomolar de concentração de catecolaminas e inibição em concentrações mais altas, justamente naquelas em que a lipólise é estimulada. Em adipócitos, o efeito das catecolaminas sobre a lipólise se dá por meio de sua interação com receptores β -adrenérgicos acoplados à proteína G estimulatória (Gs). Esta ativa a enzima adenilil ciclase, que catalisa a conversão de ATP a AMPc. O AMPc ativa uma proteína quinase dependente de AMPc (PKA), que fosforila e ativa a enzima lipase hormônio sensível (HSL). Essa enzima promove a hidrólise de triacilglicerol em glicerol e ácidos graxos. Assim sendo, o primeiro passo da cascata de reações intracelulares que ocorre após ativação β -adrenérgica é o aumento da concentração de AMPc (LAFONTAN, 2001). Por outro lado, o efeito das catecolaminas sobre a captação de glicose e produção de lactato por adipócitos é mediado por adrenoceptores do tipo α_1 (FAINTRENIE e GÉLOËN, 1998; CHENG *et al.*, 2000) e este processo é inibido pelo AMPc (TAYLOR *et al.*, 1976, TAYLOR e HALPERIN, 1979). Os adrenoceptores α_1 não são ligados ao sistema de adenilil ciclase e não aumentam as concentrações intracelulares de AMPc. Estes adrenoceptores ativam a fosfolipase C, que cliva fosfolipídeos de membrana, liberando 1,4,5 - inositol-trifosfato e diacil-glicerol. Os inositídeos atuam em estoques intracelulares de cálcio, estimulando a liberação deste íon no citosol. A inibição da liberação de lactato pelos adipócitos na presença de concentrações de catecolaminas capazes de aumentar a concentração intracelular de AMPc fica evidente quando as curvas concentração-resposta

para os efeitos lipolítico e glicolítico de qualquer das duas catecolaminas utilizadas neste trabalho são plotadas juntas. Pois, naquelas concentrações em que ocorre estimulação da lipólise há também inibição da liberação de lactato. Nenhum dos efeitos das catecolaminas sobre adipócitos analisados neste trabalho foi alterado pelo protocolo de estresse.

Concluindo, os resultados aqui apresentados mostraram que as alterações na temperatura corporal dos ratos e das concentrações plasmáticas de corticosterona e de lactato indicaram que a intensidade do estresse aumenta à medida que a temperatura da água diminui, mas as alterações observadas nos demais parâmetros metabólicos analisados não foram proporcionais à intensidade do estresse. Não foram detectadas alterações nas concentrações plasmáticas de glicose e de glicerol, ou nas respostas lipolítica e glicolítica às catecolaminas. O aumento nas concentrações plasmáticas de ácidos graxos e na atividade lipolítica e glicolítica espontânea de adipócitos, bem como a depleção da concentração de glicogênio muscular foi independente da intensidade do estresse.

Por outro lado, o aumento da duração da última sessão de natação para trinta minutos (SAMPAIO-BARROS *et al.*, 2003) resulta em aumento significativo da glicemia, depleção no conteúdo hepático de glicogênio e mais intensa no glicogênio muscular, com os demais parâmetros apresentando alterações semelhantes aos aqui registrados. Em adipócitos de ratos submetidos à natação não ocorre alteração de sensibilidade aos agonistas adrenérgicos como foi descrito em adipócitos de ratos submetidos a estresse por choques nas patas (FARIAS-SILVA *et al.*, 1999; 2004).

Assim sendo, os resultados aqui apresentados em conjunto com os da literatura sugerem que as alterações induzidas pelo estresse na resposta metabólica de ratos dependem principalmente da natureza do agente estressor. O estresse por natação, em qualquer das intensidades utilizadas neste protocolo não desencadeou alterações

semelhantes àquelas causadas por choques nas patas. Estes dados estão de acordo com as teorias atualmente aceitas sobre estresse e alostasia que preconizam que cada resposta de estresse apresenta certo grau de especificidade (MARCONDES *et al.*, 1996; GOLDSTEIN, 2003).

6. CONCLUSÕES

Os resultados permitem concluir que em paradigmas de estresse por natação, a intensidade do estresse é diretamente proporcional à diferença entre a temperatura da água e a temperatura corporal e que, no estresse por natação, diferentes intensidades resultam em respostas metabólicas similares.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRE P, BONHIVERS M, BORGNIA MJ. The aquaporins, blueprints for cellular plumbing systems. **J Biol Chem** 1998; 273 (24):14659 - 14662.
- ALEMOHAMMAD MM, KNOWLES CJ. Osmotically induced volume and turbidity changes of *Escherichia coli* due to salts, sucrose and glycerol, with particular reference to the rapid permeation of glycerol into the cell. **J Gen Microbiol** 1974; 82 (1): 125 - 142.
- ANISHCHENKO TG, GUDKOVA EV. Sex differences in sensitivity of albino rats to adrenalin. **Bull Exp Biol Med** 1992; 113 (6): 769 - 771.
- AXELROD J, REISINE TD. Stress hormones: their interaction and regulation. **Science** 1984; 224 (4648): 452 - 459.
- BASSEL-DUBY R, OLSON EN. Signaling pathways in skeletal muscle remodeling. **Annu Rev Biochem** 2006; 75: 19 - 37.
- BONEN A, BLEWETT C, McDERMOTT JC, ELDER GC. A model for nonexercising hindlimb muscle in exercising animals. **Can J Physiol Pharmacol** 1990; 68 (7): 914 - 921.
- BOSCHMANN M, KRUPP G, LUFT FC, KLAUS S, JORDAN J. In vivo response to α_1 -adrenoceptor stimulation in human white adipose tissue. **Obesity Research** 2002; 10 (6): 555 - 558.

- BOTTINELLI R, BETTO R, SCHIAFFINO S, REGGIANNI C. Unloaded shortening velocity and myosin heavy chain and alkali light chain isoform competition in rat skeletal muscle fibers. **J Physiol** 1994; 478: 341- 349.
- BRINDLEY DN, AKESTER H, DERRICK GP, IRVINE CD, PATMORE RD, SPENCER H, et al. Effects of chronic administration of benfluorex to rats on the metabolism of corticosterone, glucose, triacylglycerols, glycerol and fatty acid. **Biochem. Pharmacol** 1988; 37 (4): 695 - 705.
- BRISSON D, VOHL MC, ST-PIERRE J, HUDSON TJ, GAUDET D. Glycerol: a neglected variable in metabolic processes? **BioEssays** 2001; 23: 534- 542.
- BUKOWIECKI L, LUPIEN J, FOLLEA N, PARADIS A, RICHARD D, LeBLANC J. Mechanism of enhanced lipolysis in adipose tissue of exercise-trained rats. **Am J Physiol** 1980; 239: E422-429.
- BUKOWIECKI LJ, FOLLEA N, LUPIEN J, PARADIS A. Metabolic relationships between lipolysis and respiration in rat brown adipocytes. The role of long chain fatty acids as regulators of mitochondrial respiration and feedback inhibitors of lipolysis. **J Biol Chem** 1981; 256 (4): 12840 - 12848.
- CALIL CM, MARCONDES FK The comparison of immobility time in experimental rat swimming models. **Life Sci.** 2006; in press.
- CANNON B, NEDERGAARD J. Brown adipose tissue: function and physiological significance. **Physiol Rev** 2004; 84: 277 - 359.
- CHARMANDARI E, TSIGOS C, CHROUSOS G. Endocrinology of the stress response. **Annu Rev Physiol** 2005; 67: 259 - 284.

- CHENG JT, LIU IM, YEN ST, CHEN PC. Role of α 1-adrenoceptor in the regulation of glucose uptake into white adipocyte of rats in vitro. **Autonomic Neuroscience: basic and clinical** 2000; 84:140 - 146.
- CHROUSOS GP, GOLD PW. The concepts of stress and stress system disorders. Overview of physical and behavioural homeostasis. **J Am Med Assoc** 1992; 267: 1244 - 1252.
- COLLINS S, CAO W, DANIEL KW, DIXON TM, MEDVEDEV AV, ONUMA H, SURWIT R. Adrenoceptors, uncoupling proteins and energy expenditure. **Exp Biol Med** 2001; 226 (11): 982 - 990.
- CONSOLI A, NURSHAN N, CAPANI F, GERICH J. Predominant role of gluconeogenesis in increased hepatic glucose production in NIDDM. **Diabetes** 1989; 38 (5): 550 - 557.
- CORSSMIT EPM, ROMIJN JA, SAUERWEIN HP. Regulation of glucose production with attention to nonclassical regulatory mechanisms: a review. **Metabolism** 2001; 50 (7): 742 - 755.
- DAWSON CA, ROEMER RB, HORVATH SM. Body temperature and oxygen uptake in warm- and cold-adapted rats during swimming. **J Appl Physiol** 1970; 29 (2): 150 - 154.
- DE BOER SF, KOOPMANS SJ, SLANGEN JL, VAN DER GUGTEN J. Effects of fasting on plasma catecholamine, corticosterone and glucose concentrations under basal and stress conditions in individual rats. **Physiol Behav** 1989; 45 (5): 989 - 994.
- DIETZE G, WICKLMAYR M, HEPP KD, BOGNER W, MEHNERT H, CZEMPIEL H, HENFTLING HG. On gluconeogenesis of human liver. Accelerated hepatic glucose formation induced by increased precursor supply. **Diabetologia** 1976; 12 (6): 555 - 561.

- DIGIROLAMO M, NEWBY FD, LOVEJOY J. Lactate production in adipose tissue: a regulated function with extra-adipose implications. **FASEB J** 1992; 6: 2405 - 2412.
- DRUGAN RC, EREN S, HAZI A, SILVA J, CHRISTIANSON JP, KENT S. Impact of water temperature and stressor controllability on swim stress-induced changes in body temperature, serum corticosterone and immobility in rats. **Pharmacol, Biochem and Behavior** 2005; 82: 397 – 403.
- EIGLER N, SACCÀ L, SHERWIN RS. Synergistic interactions of physiologic increments of glucagon, epinephrine and cortisol in the dog. **J Clin Invest** 1979; 63 (1): 114 - 123.
- EUKER JS, MEITES J, RIEGLE GD. Effects of acute stress on serum LH and prolactin in intact, castrate and dexamethasone-treated male rats. **Endocrinology** 1975; 96 (1): 85 - 92.
- EXTON JH, FRIEDMANN N, WONG EH, BRINEAUX JP, CORBIN JD, PARK CR. Interaction of glucocorticoids with glucagon and epinephrine in the control of gluconeogenesis and glycogenolysis in liver and of lipolysis in adipose tissue. **J Biol Chem** 1972; 247 (11): 3579 - 3588.
- FAIN JN, GARCÍA-SÁINZ JA. Adrenergic regulation of adipocyte metabolism. **J Lipid Res** 1983; 24 (8): 945 - 966.
- FAINTRENIE G, GÉLOËN A. Alpha-1 adrenergic regulation of lactate production by white adipocytes. **J Pharmacol Exp Ther** 1995; 277 (1): 235 - 238.
- FAINTRENIE G, GÉLOËN A. Alpha-1 adrenergic stimulation of glucose uptake in rat white adipocytes. **J Pharmacol Exp Ther** 1998; 286 (2): 607 - 610.

- FARIAS-SILVA E, GRASSI-KASSISSE DM, WOLF-NUNES V, SPADARI-BRATFISCH RC. Stress-induced alteration in the lipolytic response to beta-adrenoceptor agonists in rat white adipocytes. **J Lipid Res** 1999; 40 (9): 1719 - 1727.
- FARIAS-SILVA E, SAMPAIO-BARROS MM, AMARAL MEC, CARNEIRO EM, BOSCHERO AC, GRASSI-KASSISSE DM, SPADARI-BRATFISCH RC. Subsensitivity to insulin in adipocytes from rats submitted to foot-shock stress. **Can J Physiol Pharmacol** 2002; 80: 783 - 789.
- FARIAS-SILVA E, SANTOS IN, AMARAL MEC, GRASSI-KASSISSE DM, SPADARI BRATFISCH RC. Glucocorticoid receptor and beta-adrenoceptor expression in epididymal adipose tissue from stressed rats. **Ann N Y Acad Sci** 2004; 1018: 328-332.
- FOREST C, TORDJMAN J, GLORIAN M, DUPLUS E, CHAUVET G, QUETTE J, BEALET EG, ANTOINE B. Fatty acid recycling in adipocytes: a role for glyceroneogenesis and phosphoenolpyruvate carboxykinase. **Bioch Soc Transaction** 2003; 31 (6):1125 - 1129.
- GÉLOËN A, COLLET AJ, BUKOWIECKI LJ. Role of sympathetic innervation in brown adipocyte proliferation. **Am J Physiol Regul Integr** 1992; 263: 1176 - 1181.
- GILLETTE CA, BULLOUGH RC, MELBY CL. Postexercise energy expenditure in response to acute aerobic or resistive exercise. **Int J Sport Nutr** 1994; 4 (4): 347 - 360.
- GOLDSTEIN DS. Catecholamines and stress. **Endocrine Regulations** 2003; 37: 69-80.
- GRIFFIN JF. Stress and immunity: a unifying concept. **Vet. Immunol. Immunopathol** 1989; 20 (3): 263 - 312.

- GUO Z, JENSEN MD. Blood glycerol is an important precursor for intramuscular triacylglycerol synthesis. **J Biol Chem** 1999; 274 (34): 23702 - 23706.
- HAJDUCH E, HEYES RR, WATT PW, HUNDAL HS. Lactate transport in rat adipocyte: identification of monocarboxylate transporter 1 (MCT1) and its modulation during streptozotocin-induced diabetes. **FEBS Letters** 2000; 479: 89 - 92.
- HALESTRAP P, PRICE N. The proton-linked monocarboxylate transporter (MCT) family: structure, function and regulation. **Biochemical J** 1999; 343: 281 - 299.
- HAMET P, TREMBLAY J. Genetic determinants of the stress response in cardiovascular disease. **Metabolism** 2002; 51 (6): 15 - 24.
- HART JS, JANSKY L. Thermogenesis due to exercise and cold in warm and cold acclimated rats. **Can J Biochem Physiol** 1963; 41: 629 - 634.
- HELLER KB, LIN ECC, WILSON H. Substrate specificity and transport properties of the glycerol facilitator of Escherichia coli. **J Bacteriol** 1980; 144 (1): 274 - 278.
- HENNESSY MB, HEYBACH JP, VERNIKOS J, LEVINE S. Plasma corticosterone concentrations sensitively reflect levels of stimulus intensity in the rat. **Physiol Behav** 1979; 22 (5): 821 - 825.
- HERD JA. Cardiovascular response to stress. **Physiol Rev** 1991; 71 (1): 305 - 330.
- HIMMS-HAGEN J. Sympathetic regulation of metabolism. **Pharmacol Rev** 1967; 19 (3): 367 - 461.
- HIMMS-HAGEN J. Brown adipose tissue thermogenesis: interdisciplinary studies. **FASEB J** 1990; 4: 2890 - 2898.

- HUE L, FELIU JE, HERS HG. Control of gluconeogenesis and of enzymes of glycogen metabolism in isolated rat hepatocytes. A parallel study of the effect of phenylephrine and of glucagon. **Biochem J** 1978; 176 (3): 791 - 797.
- JENSEN MO, PARK S, TAJKHORSHID E, SCHULTEN K. Energetics of glycerol conduction through aquaglyceroporin GlpF. **PNAS** 2002; 99 (10): 6731 - 6736.
- JUEL C, HALESTRAP AP. Lactate transport in skeletal muscle-role and regulation of the monocarboxylate transporter. **J Physiol** 1999; 517 (3): 633 - 642.
- KANT GJ, BUNNELL BN, MOUGEY EH, PENNINGTON LL, MEYERHOFF JL. Effects of repeated stress on pituitary cyclic AMP, and plasma prolactin, corticosterone and growth hormone in male rats. **Pharmacol Biochem Behav** 1983; 18 (6): 967 - 971.
- KNEER NM, LARDY HA. Regulation of gluconeogenesis by norepinephrine, vasopressin, and angiotensin II: a comparative study in the absence and presence of extracellular Ca^{2+} . **Arch Biochem Biophys** 1983; 225 (1): 187 - 195.
- KONARSKA M, STEWART RE, McCARTY R. Habituation of sympathetic-adrenal medullary responses following exposure to chronic intermittent stress. **Physiol Behav** 1989; 45 (2): 225 - 261.
- KONARSKA M, STEWART RE, McCARTY R. Habituation and sensitization of plasma catecholamine responses to chronic intermittent stress: effects of stressor intensity. **Physiol Behav** 1990; 47 (4): 647 - 652.
- KRULICH L, HEFCO E, ILLNER P, READ CB. The effects of acute stress on the secretion of LH, FSH, prolactin and GH in the normal male rat, with comments on their statistical evaluation. **Neuroendocrinology** 1974; 16 (5-6): 293 - 311.

- KUO CC, FATTOR JA, HENDERSON GC, BROOKS GA. Role of exercise in reducing the risk of diabetes and obesity lipid oxidation in fit young adults postexercise recovery. **J Appl Physiol** 2005; 99: 349 - 356.
- LAFONTAN M, BOUSQUET-MELOU A, GALITIZKY J, BARBE P, CARPÉNÉ C, LANGIN D, et al. Adrenergic adrenoceptors and fat cells: differential recruitment by physiological amines and homologous regulation. **Obes. Res** 1995; 3 (suppl 4): 507s - 514s.
- LAFONTAN M. Lipid metabolism in adipose tissue: adrenergic control of the adipocyte and mobilization of the lipids. **Ann Endocrinol** 2001; 62 (4): S7 - S17.
- LAFONTAN M, BERLAN M, STICH V, CRAMPES F, RIVIERE D, DE GLISEZINSKI I, et al. Recent data on the regulation of lipolysis by catecholamines and natriuretic peptides. **Ann Endocrinol** 2002; 63 (2): 86 - 90.
- LESCOAT G, JEGO P, BERAUD G, MANIEY J. Sex influences on the response of the hypothalamo-hypophysio-adrenal axis to emotional and systemic stress in the rat. **C R Seances Soc Biol Fil** 1970; 164 (10): 2106 - 2113.
- LIN EC. Glycerol utilization and its regulation in mammals. **Annu Rev Biochem** 1977; 46: 765 - 795.
- LO S, RUSSELL JC, TAYLOR AW. Determination of glycogen in small tissue samples. **J App Physiol** 1970; 28: 234 - 236.
- LU D, GRAYSON P, SCHULTEN K. Glycerol conductance and physical asymmetry of the *Escherichia coli* glycerol facilitator GlpF. **Biophysical J** 2003; 85 (5): 2977 - 2987.

- LUGER A, DEUSTER PA, GOLD PW, LORIAUX DL, CHROUSOS GP. Hormonal responses to the stress of exercise. **Adv Exp Med Biol** 1988; 245: 273 - 280.
- MARCONDES FK, VANDERLEI LCM, LANZA LLB, SPADARI-BRATFISCH RC. Stress-induced subsensitivity to catecholamines depends on the estrous cycle. **Can J Physiol Pharmacol** 1996; 74: 663 - 669.
- MARPLES DN. Endocrine responses of stress susceptible and stress resistant swine to environmental stressors. **J Anim Sci** 1972; 35 (3): 576 - 579.
- MASON JW. A review of psychoendocrine research on the pituitary-adrenal cortical system. **Psychosom Med** 1968a; 30 (5): 576 - 607.
- MASON JW. A review of psychoendocrine research on the sympathetic-adrenal medullary system. **Psychosom Med** 1968b; 30 (5): 631 - 653.
- McLANE JA, HOLLOSZY JO. Glycogen synthesis from lactate in the three types of skeletal muscle. **J Biol Chem** 1979; 254 (14): 6548 - 6553.
- MILLS FJ. The endocrinology of stress. **Aviat Space Environ Med** 1985; 56 (7): 642 - 650.
- MOTZER SA, HERTIG V. Stress, stress response, and health. **Nurs Clin N Am** 2004; 39: 1 - 17.
- NEWGARD CB, BRADY MJ, O'DOHERTY RM, SALTIEL AR. Perspectives in diabetes. Organizing glucose disposal. Emerging roles of the glycogen targeting subunits of protein phosphatase-1. **Diabetes** 2000; 49: 1967 - 1977.
- PARÉ WP, REDEI E. Sex differences and stress response of WKY rats. **Physiol Behav** 1993; 54 (6): 1179 - 1185.

- PAULETTO P, SCANNAPIECO G, PESSINA AC. Sympathetic drive and vascular damage in hypertension and atherosclerosis. **Hypertension** 1991; 17 (4): III75 - 81.
- PETTE D, SPAMER C. Metabolic properties of muscle fibers. **Fed Proc** 1986; 45: 2910 - 2914.
- PETTE D, STARON RS. Cellular and molecular diversities of mammalian skeletal muscle fibers. **Rev Physiol Biochem Pharmacol** 1990; 116: 1 - 76.
- PHELAIN JF, REINKE E, HARRIS MA, MELBY CL. Post exercise energy expenditure and substrate oxidation in young women resulting from exercise bouts of different intensity. **J Am Coll Nutr** 1997; 16 (2): 140 - 146.
- PILKIS SJ, EL-MAGHRABI MR, CLAUS TH. Hormonal regulation of hepatic gluconeogenesis and glycolysis. **Annu Rev Biochem** 1988; 57: 755 - 783.
- PITTNER RA, FEARS R, BRINDLEY DN. Effects of cyclic AMP, glucocorticoids and insulin on the activities of phosphatidate phosphohydrolase, tyrosine aminotransferase and glycerol kinase in isolated rat hepatocytes in relation to the control of triacylglycerol synthesis and gluconeogenesis. **Biochem J** 1985a; 225 (2): 455 - 462.
- PITTNER RA, FEARS R, BRINDLEY DN. Interactions of insulin, glucagon and dexamethasone in controlling the activity of glycerol phosphate acyltransferase and the activity and subcellular distribution of phosphatidate phosphohydrolase in cultured rat hepatocytes. **Biochem J** 1985b; 230 (2): 525 - 534.
- POLLARD I, WHITE BM, BASSETT JR, CAIRNCROSS KD. Plasma glucocorticoid elevation and desynchronization to the estrous cycle following unpredictable stress in the rat. **Behav Biol** 1975; 14 (1): 103 - 108.

- PORSOLT RD, ANTON G, BLAVET N, JALFRE M. Behavioural despair in rats: a new model sensitivity to antidepressant treatments. **Eur J Pharmacol** 1978; 47 (4): 379 – 391.
- RETANA-MARQUEZ S, BONILLA-JAIME H, VAZQUEZ-PALACIOS G, DOMINGUEZ-SALAZAR E, MARTINEZ-GARCIA R, VELAZQUEZ-MOCTEZUMA J. Body weight gain and diurnal differences of corticosterone changes in response to acute and chronic stress in rats. **Psiconeuroendocrinol** 2003; 28 (2): 207 - 227.
- RIEGLE GD. Chronic stress effects on adrenocortical responsiveness in young and aged rats. **Neuroendocrinology** 1973; 11 (1): 1-10.
- RODBELL M. Metabolism of isolated fat cells. I. Effects of hormones on glucose metabolism and lipolysis. **J Biol Chem** 1964; 239 (2): 375 - 380.
- RODRIGUES ML, MARCONDES FK, SPADARI-BRATFISCH RC. Relationship among sensitivity to adrenaline, plasma corticosterone level, and estrous cycle in rats. **Can J Physiol Pharmacol** 1995; 73 (5): 602 - 607.
- RYAN C, FERGUSON K, RADZIUK J. Glucose dynamics and gluconeogenesis during and after prolonged swimming in rats. **J Appl Physiol** 1993; 74 (5): 2404 - 2411.
- SAMPAIO-BARROS MM, FARIAS-SILVA E, GRASSI-KASSISSE DM, SPADARI-BRATFISCH RC. Effect of swimming session duration and repetition on metabolic markers in rats. **Stress** 2003; 6 (2): 127 - 132.
- SANTOS AG, ALMEIDA J, FRANCESCONI EPMS, GRASSI-KASSISSE DM. O exercício físico em animais de laboratório. Projeto Ciências nas Férias 2003.

- SANTOS IN, SPADARI-BRATFISCH RC. Stress and cardiac beta adrenoceptors. **Stress** 2006; 9 (2): 1 - 16.
- SPADARI RC, DeMORAES S. Repeated swimming stress and responsiveness of the isolated rat pacemaker to the chronotropic effect of noradrenaline and isoprenaline: role of adrenal corticosteroids. **Gen. Pharmac.** 1988; 19 (4): 553 – 557.
- SELL H, DESHAIES Y, RICHARD D. The brown adipocyte: update on this metabolic role. **Intern J Bioch & Cell Biol** 2004; 36: 2098 - 2104.
- SELYE HA. Syndrome produced by diverse noxious agents. **Nature** 1936; 138 (1): 32.
- SILVA JE. The multiple contributions of thyroid hormone to heat production. **J Clin Invest** 2001; 108 (1): 35 - 37.
- SLAVIN BG, ONG JM, KERN PA. Hormonal regulation of hormone-sensitive lipase activity and mRNA levels in isolated rat adipocytes. **J Lipd Res** 1994; 35 (9):1535 - 1541.
- SPADARI-BRATFISCH RC, SANTOS IN, VANDERLEI LCM, MARCONDES FK. Pharmacological evidence for β_2 -adrenoceptor in right atria from stressed female rats. **Can J Physiol Pharmacol** 1999; 77: 432 - 440.
- STANLEY WC, CONNETT RJ. Regulation of muscle carbohydrate metabolism during exercise. **FASEB J** 1991; 5: 2155 - 2159.
- STERLING P, EYER J. Allostasis: A new paradigm to explain arousal pathology. In: Fisher S, Reason J, editors. **Handbook of life stress, cognition and health**. 1988: 629 - 649.

- TANNO AP, BIANCHI FJ, COSTA SAMPAIO MOURA MJ, MARCONDES FK. Atrial supersensitivity to noradrenaline in stressed female rats. **Life Sci** 2002; 71 (25): 2973 - 2981.
- TAOUI M, VALET P, ESTAN L, LAFONTAN M, MONTASTRUC P, BERLAN M. Obesity modifies the adrenergic status of dog adipose tissue. **J Pharm Exp Ther** 1989; 250 (3): 1061 - 1066.
- TAYLOR WM, MAK ML, HALPERIN ML. Effect of 3':5'-cyclic AMP on glucose transport in rat adipocytes. **Proc. Nat. Acad. Sci. USA** 1976; 73 (12): 4359 – 4363.
- TAYLOR WM, HALPERIN ML. Stimulation of glucose transport in rat adipocytes by insulin, adenosine, nicotinic acid and hydrogen peroxide. **Biochem J** 1979; 178: 381-89.
- TRAYHURN P. Fatty acid synthesis in vivo in brown adipose tissue, liver and white adipose tissue of the cold-acclimated rat. **FEBS Lett** 1979; 104 (1): 13 - 16.
- VAN DE KAR LD, RICHARDSON-MORTON KD, RITTENHOUSE PA. Stress: neuroendocrine and pharmacological mechanisms. **Methods Achiev Exp Pathol** 1991; 14: 133 - 173.
- VAN MARKEN LICHTENBELT WD, DAANEN HAM. Cold-induced metabolism. **Curr Opin Clin Nutr Metab Care** 2003; 6 (4): 469 - 475.
- VANDERLEI LC, MARCONDES FK, LANZA LL, SPADARI-BRATFISCH RC. Influence of the estrous cycle on the sensitivity to catecholamines in right atria from rats submitted to foot-shock stress. **Can J Physiol Pharmacol** 1996; 74 (6): 670 - 678.

- VERAGO JL, GRASSI-KASSISSE DM, SPADARI-BRATFISCH RC. Metabolic markers following beta-adrenoceptor agonist infusion in footshock-stressed rats. **Braz J Med Biol Res** 2001; 34 (9): 1197 - 1207.
- VOGEL WH, JENSH R. Chronic stress and plasma catecholamine and corticosterone levels in male rats. **Neurosci Lett** 1998; 87 (1-2): 183 - 188.
- WALBERG JL, GREENWOOD MRC, STERN JS. Lipoprotein lipase activity and lipolysis after swim training in obese Zucker rats. **Am J Physiol** 1983; 245: R706 – R712.
- WATT MJ, HOWLETT KF, FEBBRAIO MA, SPRIET LL, HARGREAVES M. Adrenaline increases skeletal muscle glycogenolysis, pyruvate dehydrogenase activation and carbohydrate oxidation during moderate exercise in humans. **J Physiol** 2001; 534 (1): 269 - 278.
- WILMORE JH. Body composition in sport and exercise: directions for future research. **Med Sci Sports Exerc** 1983; 15: 255 - 265.
- YOREK MA, RUFO JR GA, RAY PD. Gluconeogenesis in rabbit liver. III. The influences of glucagon, epinephrine, alpha- and beta-adrenergic agents on gluconeogenesis in isolated hepatocytes. **Biochim Biophys Acta** 1980; 632 (4): 517 - 526.

8. ANEXOS

COMISSÃO DE ÉTICA NA EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL

TRABALHOS APRESENTADOS EM CONGRESSO

CERTIFICADO DE HONRA AO MÉRITO



Universidade Estadual de Campinas
Instituto de Biologia



CEEA-IB-UNICAMP

Comissão de Ética na Experimentação Animal
CEEA-IB-UNICAMP

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº **598-2**, sobre "**INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA DA ÁGUA NOS MARCADORES METABÓLICOS DE RATOS SUBMETIDOS AO ESTRESSE POR NATAÇÃO**" sob a responsabilidade de **Profa. Dra. Regina Célia Spadari-Bratfisch/Edgar Teruhiko Hatore** está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), tendo sido aprovado pela Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEA)-IB-UNICAMP em reunião de 07 de Novembro de 2003.

CERTIFICATE

We certify that the protocol nº **598-2**, entitled "**INFLUENCE OF THE WATER TEMPERATURE IN METABOLIC MARKERS OF RATS SUBMITTED TO SWIMMING STRESS**", is in agreement with the Ethical Principles for Animal Research established by the Brazilian College for Animal Experimentation (COBEA). This project was approved by the institutional Committee for Ethics in Animal Research (State University of Campinas - UNICAMP) on November 7, 2003.

Campinas, 07 de Novembro de 2003.

Profa. Dra. Liana Verinaud
Presidente - CEEA/IB/UNICAMP

Fátima-Alonso
Secretária - CEEA/IB/UNICAMP

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CIDADE UNIVERSITÁRIA ZEFERINO VAZ
CEP -13.081-970 - CAMPINAS - SP - BRASIL

TELEFONE 55 19 3788-6359
FAX 55 19 32893124

2005

FESBE



Federação de Sociedades de Biologia Experimental
24 a 27 de agosto - Águas de Lindóia - SP - Brasil

Certificamos que:

o resumo 37.070
INFLUENCE OF WATER TEMPERATURE ON METABOLIC TRACERS OF RATS SUBMITTED TO SWIMMING STRESS. Hatore, E.
T.; Sampaio-Barros, M. M.; Grassi-Kassisse, D. M.; Spadari Bratfisch, R. C. Fisiologia e Biofísica IB-UNICAMP foi apresentado sob a
forma de painel na

**XX Reunião Anual da
Federação de Sociedades de Biologia Experimental-FESBE, realizada
na cidade de Águas de Lindóia - São Paulo, de 24 a 27 de agosto de 2005**

Comissão Organizadora

Roberto Malus

37.067

EFFECTS OF CARBOHYDRATES INTAKE ON THE HEAT STORAGE RATE OF TRAINED INDIVIDUALS DURING PROLONGED EXERCISE IN A WARM AND HUMID ENVIRONMENT. Lacerda, M. G.; Gomes, A. R.;; de Martin-Silva, L.;; Araújo-Ferreira, A. P.;; Nassif-Leonel, C.;; Silami-Garcia, E. UFMG

37.068

DIFFERENTIAL CARDIAC REMODELING INDUCED BY HYPERTENSION AND TRAINING: RESPECTIVE ALTERATIONS ON SIGNALING PATHWAYS. Martins, A. S.; Bordin, S.; Michelini, L. C. Fisiologia e Biofísica ICB I-USP

37.069

SIGNALING PATHWAYS ON CARDIAC HYPERTROPHY IN FEMALE SHR: EFFECTS OF OVARECTOMY AND TRAINING. Martins, A. S.; Koo, E. N.;; Lima, M. S.;; Michelini, L. C.; Bordin, S.; Fisiologia ICB-USP; Farmacologia ICB I-USP; Fisiologia e Biofísica ICB I-USP

37.070

INFLUENCE OF WATER TEMPERATURE ON METABOLIC TRACERS OF RATS SUBMITTED TO SWIMMING STRESS. Hatore, E. T.; Sampaio-Barros, M. M.; Grassi-Kassisse, D. M.; Spadari Bratfisch, R. C. Fisiologia e Biofísica IB-UNICAMP

37.071

EFEITO DO EXERCÍCIO CRÔNICO SOBRE A FUNCIONALIDADE DE NEUTRÓFILOS DE RATOS. Levada, A. C.; Lambertucci, R. H.;; Mohamad, M.;; Alba-Loureiro, T. C.;; Pithon-Curi, T. C.;; Curi, R. ICB-USP; Fisiologia do Exercício UNIMEP; Fisiologia Exercício Universidade São Judas Tadeu

37.072

INTERVENÇÃO FISIOTERAPÊUTICA EM ESCOLARES DE OITO A ONZE ANOS COM ALTERAÇÕES POSTURAS. Harari, D.; Moya, G. B. L. Fisioterapia Fonoaudiologia e T. O. FMUSP

37.073

INVESTIGAÇÃO DOS MECANISMOS ENVOLVIDOS NAS ALTERAÇÕES DA REATIVIDADE VASCULAR RENAL INDUZIDAS PELO TREINAMENTO FÍSICO AERÓBICO : UMA ABORDAGEM PROTEÔMICA. de Moraes R; Gioseffi, G.; Valente, R. H.; Trugilho, M. R. O.; Leon, I. R.; Perales, J.; Tibiriçá, E.; Fisiologia e Farmacodinâmica FIOCRUZ

37.074

COMPARAÇÃO DA FUNÇÃO SUDORÍPARA ENTRE HOMENS E MULHERES EM DOIS TIPOS DE EXERCÍCIO. Oliveira, K. P. M.; Rosa, M. S.;; Napoleão-Lopes, L.;; Fonseca, I. A. T.;; Albuquerque, D. P.;; Soares, D. D.; Rodrigues, L. O. C.; Fisiologia do Exercício UFMG

37.075

EFEITOS DO TREINAMENTO COM CARGA NA GERAÇÃO DE TORQUE DOS MÚSCULOS EXTENSORES E FLEXORES DO JOELHO DE MULHERES COM OSTEOPOROSE. Navega, M. T.; Aveiro M. C.;; Oishi, J. Fisioterapia UFSCar; Estatística UFSCar

37.076

MEASUREMENT OF SWEAT RATE IN DIABETIC TYPE 1 PATIENTS DURING GRADED EXERCISE UNTIL EXHAUSTION. Madeira, L. G.; Rocha, C. M.; Sá, K. R.; Napoleão-Lopes, L.;; Albuquerque, D. P.;; Diniz, L. M.; Rodrigues, L. O. C. UFMG; Educação Física e Esportes UFMG; Fisiologia do Exercício UFMG; Medicina UFMG

37.077

EFEITOS DO EXERCÍCIO DE INÍCIO IMEDIATO X TARDIO NO PROCESSO DE REGENERAÇÃO MUSCULAR. Faria, F. E. T.; Ferrari, R. J.; Minamoto, V. B. Ciências da Saúde UNIMEP; Fisiologia do Exercício UNIMEP; Morfologia UNIMEP

37.078

EFFECT OF PHYSICAL PRECONDITIONING ON THE REACTIVITY OF MESENTERIC ARTERY FROM RATS SUBMITTED TO PULMONARY ISCHAEMIA-REPERFUSION. Moraes, C.; Camargo, E. A.;; Ferreira, T.; Landucci, E. C. T.; Kalaf, R.; Antunes, E.; de Nucci, G.; Zanesco, A. Educação Física UNESP-Rio Claro; Ciências Médicas UNICAMP; Farmacologia UNICAMP; Cirurgia UNICAMP; Farmacologia USP

37.079

COMPARAÇÃO ENTRE A MAIOR FREQUÊNCIA CARDÍACA ATINGIDA EM JOGOS COM AS FREQUÊNCIAS CARDÍACAS MÁXIMAS MEDIDA E ESTIMADA Condessa, L. A.; Mortimer, L. A. C. F.; Coelho, D. B.;; Soares, D. D.; Silami-Garcia, E. UFMG

37.080

EFEITO DO TREINAMENTO AERÓBIO NA ÁREA E INCIDÊNCIA DO TIPO DE FIBRA DO MÚSCULO SÓLEO DE RATO. Silva, M. T.; Campos, R. S. P.; Masano, R. T.; Guadim, E. S.; Distefano, G.; Minamoto, V. B. Ciências Biológicas e da Saúde UNIMEP; Fisioterapia UNIMEP

37.081

EFEITOS COMPORTAMENTAIS ASSOCIADOS A FÁRMACO ANFETAMÍNICO EM ANIMAIS SUBMETIDOS A TREINAMENTO DE NATAÇÃO. Maslinkiewicz, A.; Lachnit, L. C.; Oderich, S. H.; Hessel, C. T.; Wagner, M.; Justo, G. R.; Yamazaki, S. T.; Seewald, C.; Spode, N.; Lagranha, D. J.;; Janner, D. R.;; da Rocha Vianna, D.; Bandeira de Mello, D. M. R.; Heck, T. G.;; Matzenbacher dos Santos, J.;; Dallacorte, V. L. C.; Curi, R.; Homem de Bittencourt Jr., P. I. Ciências Fisiológicas FFFCMPA; Colégio Sinodal; Fisiologia UFRGS; Estresse Oxidativo e Poluição Atmosférica FFFCMPA; Fisiologia e Biofísica USP

37.082

EFEITO DO TRATAMENTO CRÔNICO COM BLOQUEADORES DO SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA SOBRE O PICO DE PRESSÃO ARTERIAL ATINGIDO DURANTE UMA SESSÃO DE TREINAMENTO RESISTIDO EM RATOS NORMOTENSOS. Barauna, V. G.; Amadeo, M. A.; Oliveira, E. M.; Educação Física USP

37.083

EFEITO DA ATIVIDADE FÍSICA SOBRE A PRESSÃO ARTERIAL E A FUNÇÃO RENAL EM RATOS ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS (SHR). Borges, R. C. P.; Gontijo, J. A. R. Clínica Médica FCM-UNICAMP

XXI Reunião Anual da
FESBE
Federação de Sociedades de
Biologia Experimental

o resumo 29.003 ADIPOCYTES SENSITIVITY TO CATECHOLAMINES IS INDEPENDENT OF STRESS INTENSITY. ¹Hatore, E. T.; ²Sampaio-Barros, M.M.; ³Farias-Silva, E.; ⁴Grassi-Kassisse, D. M.; ⁵Spadari-Bratfisch, R.C. ^{1,2,3,4,5}Fisiologia e Biofísica - IB, UNICAMP foi apresentado sob a forma de painel na

Certificamos que:

**XXI Reunião Anual da
Federação de Sociedades de Biologia Experimental-FESBE, realizada
na cidade de Águas de Lindóia - São Paulo, de 23 a 26 de agosto de 2006**

Joelma Maluc
Comissão Organizadora

2006

⁴Massant, C. G.**; ⁵Mello, L. E. A. M. 1,2,3,4,5Fisiologia, UNIFESP

24.008

CULTURAS TRIDIMENSIONAIS MULTICELULARES PARA O ESTUDO DE INTERAÇÕES CELULARES NO MICROAMBIENTE HEMATOPOIÉTICO. ¹Barros, A. P. D. N.; ²Garzoni LR; ³Thiago, L. S.**; ⁴Meirelles N; ⁵Otazu, IB; ⁶Dutra HS; ⁷Takya CM; ⁸Borojevic, R. 1,3,5,6,7,8,9Histologia e Embriologia, UFRJ; ², ⁴UBC, FIOCRUZ

24.009

DISTRIBUIÇÃO DA PROTEOGLICANA DE CONDRITIN SULFATO NA MORFOGÊNESE DO CORPO VERTEBRAL DE GALLUS. ¹Santos, R. S.; ²Ramos, T.D.P.*; ³Contreiras, E.C.; ⁴Nogueira, L.C.; ⁵Sirotheau-Corrêa, T.J. 1,2,3,4,5Morfologia, UFF

24.010

ESTUDO EXPERIMENTAL DE HIDROXIAPATITA EM FALHAS ÓSSEAS PRODUZIDAS EM CALVÁRIAS DE RATOS. ¹Ferri, F. F.*; ²Raposo do Amaral, C.M.; ³Amstalden, E. M. I.; ⁴Almeida, A. B. A. ¹Faculdade de Ciências Médicas, UNICAMP; ²Medicina, SOBRAPAR; ³Anatomia Patológica, UNICAMP; ⁴Medicina Experimental, SOBRAPAR

24.011

ESTUDO HISTOQUÍMICO E MORFOMÉTRICO DA ORGANIZAÇÃO TECIDUAL DO LIGAMENTO CRUZADO CRANIAL ROMPIDO EM CÃES. ¹Silva, R. M. G.; ²Veras, M. M.**; ³TATARUNAS A C; ⁴Caldini, E. G.; ⁵Matera, J.M. ¹Anatomia Animal Domésticos, FMVZ - USP; ², ⁴Biologia Celular, FMUSP; ³, ⁵Cirurgia, FMVZ - USP

24.012

INFLUENCIA DO EXERCÍCIO FÍSICO AERÓBICO (ESTEIRA) SOB A LIBERAÇÃO DE GLICOSE EM RATOS. ¹Camargo, T.; ²Rachid, A. F.*; ³Bodot, S. R. Z.*; ⁴Pereira, F. M. ¹Nutrição Experimental, FACULDADE ASSIS GURGACZ; ², ³Fisiologia, FACULDADE ASSIS GURGACZ; ⁴Ciências Biológicas, FACULDADE ASSIS GURGACZ

24.013

INTERSTRAIN DIFFERENCES IN EAR WOUND HEALING IN MICE. ¹Carvalho, C. R.; ²Costa, R A**; ³Azevedo Júnior, G M; ⁴Ruiz-de-Souza, V; ⁵Vaz, N. M. 1,2,3,4Morfologia, UFMG; ⁵Bioquímica e Imunologia, UFMG

24.013

POLIMORFISMO NA REGIÃO PROMOTORA (POLIMORFISMO G/C -915) DO GENE PAX9 E AGENESIA DOS TER-

CEIROS MOLARES: CORRELAÇÃO POSITIVA. ¹Bianchi, F. J.; ²Oliveira, T. F. 1,2,3Morfologia, Faculdade de Odontologia de Piracicaba

29. Endocrinologia

29.001

CARACTERIZAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO CORPORAL E METABOLISMO DO CAMUNDONGO DUPLO NOCAUTE PARA OS GENES DA LEPTINA E RECEPTOR B1 DE CININAS. ¹Sgai, D. G.; ²Santos, D.O.*; ³Galvão, A. P. M.*; ⁴Reis, F.C.G.**; ⁵Mori, M.A.S.**; ⁶Batista, E. C.**; ⁷Bader M; ⁸Pesquero, J. B.; ⁹Araujo; R.C. 1,2,CIIB - Centro Interdisciplinar Invest. Bioquímica, UMC; ³Biologia Celular e Molecular, UMC; ⁴, ⁵, ⁸Biofísica, UNIFESP; ⁶Centro de Ciências Biológicas, UMC; ⁷Molecular Biology, MDC; ⁹Bioquímica e Biologia Molecular, UMC

29.002

AÇÃO DA INULINA EXTRAÍDA DE VERNONIA HERBACEA (VELL) RUSBY NA ANATOMIA DE CÔLON E NO METABOLISMO DE LÍPIDIOS EM CAMUNDONGOS SWISS. ¹Grecco, K. N.*; ²Pessoni, R. A. B.; ³Olmedo, P. M.; ⁴Tome, L. A. 1, 2, ⁴Núcleo de Pesquisas Biológicas, UMESP; ³Biologia e Fisiologia, UMESP

29.003

ADIPOCYTES SENSITIVITY TO CATECHOLAMINES IS INDEPENDENT OF STRESS INTENSITY. ¹Hatore, E. T.; ²Sampaio-Barros, M.M.**; ³Farias-Silva, E.; ⁴Grassi-Kassisse, D. M.; ⁵Spadari-Bratfisch, R.C. 1,2,3,4,5Fisiologia e Biofísica - IB, UNICAMP

29.003

ALTERAÇÃO DO METABOLISMO DE QUILOMÍCRONS EM PACIENTES COM SÍNDROME DOS OVÁRIOS POLICÍSTICOS (SOP). ¹Rodrigues, M. R. ¹Análises Clínicas e Toxicológicas, FCF - USP; ¹Análises Clínicas e Toxicológicas, FCF - USP; ², ⁴, ⁵Endocrinologia e Metabolismo, FMUSP; ³, ⁶Lípidios, InCor - HCFMUSP

29.005

CORTISOL SALIVAR COMO INDICATIVO DE ESTRESSE AGUDO. ¹Garcia, M. C.; ²Sgobi, GA; ³Petrelluzzi, KFS**; ⁴Rolim, MC**; ⁵Grassi-Kassisse, D. M.; ⁶Spadari-Bratfisch, R.C. 1,2,3,4,5,6Fisiologia e Biofísica - IB, UNICAMP

29.006

DURANTE JEJUM E 38 HORAS DE REALIMENTAÇÃO O SISTEMA NERVOSO AUTÔNOMO SIMPÁTICO MODULA A EXPRESSÃO DO GLUT3 NO TECIDO ADIPOSEO MARROM. ¹Nascimento, M.

E. C.; ²Machado, U. 1,2Fisiologia e Biofísica - ICB I, USP

29.007

EFEITO DE DOIS ISÔMEROS DE ÁCIDO RETINÓICO SOBRE A FUNÇÃO TIREÓIDEA DE RATOS - RESULTADOS PRELIMINARES. ¹Mühlbauer, M.; ²Silva, A. C. M.**; ³Marassi, M. P.**; ⁴Lourenço, A. L.; ⁵Ferreira, A. C. F.; ⁶Carvalho, D. P. ¹Biofísica, UFRJ; ²Biofísica e Fisiologia, UFRJ; ³, ⁵, ⁶Instituto Biofísica Carlos Chagas Filho, UFRJ; ⁴Farmacologia Básica e Clínica ICB BLJ, UFRJ

29.008

EFEITO DO *TRIFOLIUM PRATENSE* L. NOS NÍVEIS SÉRICOS DE LÍPIDIOS, GLICOSE E LEPTINA EM RATAS OOFORECTOMIZADAS. ¹Lourenço, A. L.; ²Silva, A. C. M.**; ³Marassi, M. P.**; ⁴Ferreira, A. C. F.; ⁵Carvalho, D. P.; ⁶Sollero, T. 1,6Farmacologia Básica e Clínica ICB BLJ, UFRJ; ²Biofísica e Fisiologia, UFRJ; ³, ⁴, ⁵Instituto Biofísica Carlos Chagas Filho, UFRJ

29.009

EFEITO DO ÁCIDO PALMÍTICO SOBRE O METABOLISMO DE GLICOSE E O CONTEÚDO DE COENZIMA A NOS MÚSCULOS SÓLEO E EDL INCUBADOS DE RATO. ¹Hirabara, S. M.; ²Fiamoncini, J.*; ³Silveira, L. R.; ⁴Mendonça, J. R.; ⁵Leandro, C. V. G.; ⁶Carvalho, C. R. O.; ⁷Pithon-Curi, T. C.; ⁸Curi, R. 1,2,3,4,6,8Fisiologia e Biofísica - ICB I, USP; ⁵Educação Física, Universidade de Pernambuco - UPE; ⁷Ciências da Saúde, Universidade SÃO JUDAS TADEU

29.010

EFEITO DO HORMÔNIO TIREOIDEANO (T3) E DO SEU ANALOGO GC-23 NA EXPRESSÃO DE GENES ENVOLVIDOS NA BIOGÊNESE MITOCONDRIAL NO FIGADO DE RATOS. ¹Kizys, M. M. L.; ²Vilas Boas, V. F.**; ³Scanlan TS; ⁴Moriscot, A.S. 1,2,4Biologia Celular e do Desenvolvimento, Instituto de Ciências Biomédicas - USP; ³Pharmacology, University of California

29.011

EFEITO DO HORMÔNIO TIREOIDEANO E DO TIREOMIMÉTICO GC-23 NA EXPRESSÃO DE GENES ENVOLVIDOS NA PROTEÓLISE MUSCULAR. ¹Vilas Boas, V. F.; ²Kizys, M. M. L.*; ³Scanlan TS; ⁴Moriscot, A.S. 1,2,4Biologia Celular e do Desenvolvimento, Instituto de Ciências Biomédicas - USP; ³Pharmacology, University of California

29.012

EFEITOS DOS FITOESTRÓGENOS *TRIFOLIUM PRATENSE* E *CIMICIFUGA*

CERTIFICADO DE HONRA AO MÉRITO



A FesBE tem a grande satisfação de conferir este certificado de Honra ao Mérito pela
brilhante apresentação do trabalho

29.003 ADIPOCYTES SENSITIVITY TO CATECHOLAMINES IS INDEPENDENT OF STRESS INTENSITY. ¹Hatore, E. T.;
²Sampaio-Barros, M.M.; ³Farias-Silva, E.; ⁴Grassi-Kassisse, D. M.; ⁵Spadari-Brattisch, R.C. ^{1,2,3,4,5}Fisiologia e Biofísica - IB,
UNICAMP

na XXI Reunião Anual realizada de 23 a 26 de agosto de 2006, Águas de Lindóia / SP.

Comissão Organizadora
FesBE

2006