

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS

**EFEITOS DA OVARIECTOMIA E TREINAMENTO DE FORÇA NA
CONCENTRAÇÃO TECIDUAL DE DOPAMINA E SEROTONINA NA VIA
NIGROESTRIATAL E MESOLÍMBICA DE RATAS.**

Josiane de Oliveira Duarte

SÃO CARLOS – SP

2011

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS

**EFEITOS DA OVARIECTOMIA E TREINAMENTO DE FORÇA NA
CONCENTRAÇÃO TECIDUAL DE DOPAMINA E SEROTONINA NA VIA
NIGROESTRIATAL E MESOLÍMBICA DE RATAS.**

Josiane de Oliveira Duarte

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciências Fisiológicas, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Fisiológicas.

Área de concentração: Fisiologia do Exercício.

Orientador: Sérgio E. A. Perez

SÃO CARLOS – SP

2011

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

D812eo

Duarte, Josiane de Oliveira.

Efeitos da ovariectomia e treinamento de força na concentração tecidual de dopamina e serotonina na via nigroestriatal e mesolímbica de ratas / Josiane de Oliveira Duarte. -- São Carlos : UFSCar, 2012.
50 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2011.

1. Neurofisiologia. 2. Comportamento. 3. Labirinto em cruz elevado. 4. Neuroreguladores. I. Título.

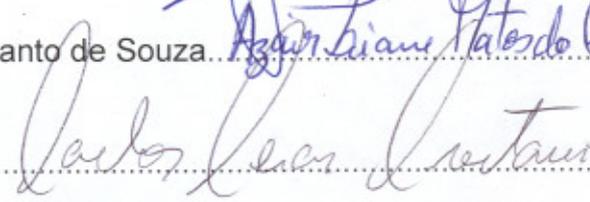
CDD: 612.8 (20ª)

Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências
Fisiológicas
Associação Ampla UFSCar/UNESP

Dissertação de Mestrado de Josiane de Oliveira Duarte

Prof. Dr. Sérgio Eduardo de Andrade Perez.....

Profª. Drª. Azair Liane Matos do Canto de Souza.....

Prof. Dr. Carlos Cesar Crestani.....

Ao meu Pai, o grande homem da minha vida,
meu companheiro da eterna jornada.

Arthur, luz da minha vida, meu amado filho,
que compartilhou a preciosidade de sua
infância com minha vida tribulada em busca
das minhas realizações.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Ao Professor Sérgio Perez por toda dedicação, pelos ensinamentos sobre a vida e pela grande oportunidade de realizar um sonho. Por incentivar-me a acreditar que mesmo diante de todos os obstáculos eu seria capaz de conseguir.

Ao Professor Vilmar Baldissera, pelo exemplo de mestre.

À Professora Cleópatra Planeta, por gentilmente me conceder a grande oportunidade de aprendizado em seu laboratório.

AGRADECIMENTO

Sair de casa apenas com a vontade de estudar, com uma criança e um cachorro, muito longe da família, enfrentar os preconceitos e superá-los não foi uma tarefa fácil. Mas acredito que a mão de DEUS me conduziu a um caminho ao qual a sua graça pode me abençoar. Pois, nenhum caminho é longo demais quando verdadeiras amigas nos acompanham. Agradeço de todo meu coração as minhas amigas, Julia e Grazielle que com exemplos constantes de fé, perseverança e determinação, me ensinaram como viver a vida. Sem vocês não teria valido a pena.

Nessa caminhada de aprendizado todos os exemplos foram verdadeiramente valiosos para meu crescimento pessoal e profissional. No laboratório de fisiologia do exercício, agradeço ao Cacau pelos ensinamentos e pela dedicação ao meu aprendizado. Mais que um técnico, um amigo. Agradeço a todos os colegas de laboratório, especialmente aqueles que se tornaram amigos, Antônio Jonas, Mateus Domingos, Fabiana S. Peixoto, Giovanna Togashi, Charles Wang, Rafaella Nascimento, Jaqueline Tavano, Diego Marine, Nuno Frade, Danilo Bertucci. E a companhia de sempre, nos momentos de confraternização das minhas amigas Márcia Vidotti e Patricia Bueno.

Ao laboratório de farmacologia - UNESP/ PANT, agradeço a todos os colegas, sem exceção, pela humildade, sabedoria e a vontade, sem distinção, de compartilhar os seus conhecimentos, especialmente ao Professores Marcelo Marin e Fábio Cruz pela paciência e dedicação. A Beth Lêpera, pelas longas horas na preparação dos ensaios no HPLC e pela boa vontade em ensinar.

Aos amigos Gabriel Fachini, Nuno Frade, Carmen Pontes, Grazielle Pereira e Julia Iriyama, que gentilmente foram essenciais para o término da minha dissertação.

Além dos companheiros desta jornada acadêmica, quero agradecer de todo coração a pessoas maravilhosas em minha vida, verdadeiros amigos, que tenho o imenso privilégio em conviver, Marli, Thais Renata, Mariúcha Magrini, João Cordiano, Manu e Fernanda, muito obrigada.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	iv
LISTA DE TABELAS	vi
LISTA DE ABREVIATURAS.....	vii
RESUMO	xi
ABSTRACT	ix
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 JUSTIFICATIVA	7
3 OBJETIVOS.....	8
4 MATERIAIS E MÉTODOS	9
4.1 ANIMAIS	9
4.2 APROVAÇÃO ÉTICA	9
4.3 PROCEDIMENTO CIRÚRGICO	9
4.4 APARATOS	11
4.4.1 Escada	11
4.4.2 Aparato de Carga.....	12
4.5 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS	12
4.5.1 Grupos	12
4.5.1.1 Grupos Sedentários	13
4.5.1.2 Grupos Treinados.....	13
4.6 FIXAÇÃO DO APARATO DE CARGA.....	14
4.7 PROTOCOLO DE TREINAMENTO DE FORÇA.....	14
4.8 Coleta de tecidos	15
4.8.1 Peso uterino.....	15
4.8.2 Dissecções das áreas encefálicas	16
4.9 Mensuração neuroquímica	16
4.10 EXPERIMENTO II	18

4.10.1.Aparatos.....	18
4.10.1.1 Campo Aberto	18
4.10.1.2 Labirinto em Cruz Elevado	19
4.10.1.3PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	20
4.10.1.4 Testes Comportamentais	20
4.10.1.5 Campo Aberto (CA)	20
4.10.1.6 Labirinto em Cruz Elevada (LCE)	20
4.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA	21
5 RESULTADOS I.....	22
5.1 MASSA CORPORAL	22
5.2 CARGA MÁXIMA	22
5.3 CONFIRMAÇÃO DA OVARIECTOMIA	23
5.4 MENSURAÇÃO NEUROQUÍMICA	24
5.4.1 Concentração tecidual de Dopamina (DA) e seus metabólitos 3,4 diidroxifenilacético (DOPAC) e ácido homovalínico (HVA) na Substancia Negra (SN).	24
5.4.2 Concentração tecidual de Serotonina (5-HT) e seu metabolito 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) na Substancia Negra (SN).	25
5.4.3 Concentração tecidual de Dopamina (DA) e seus metabólitos 3,4 diidroxifenilacético (DOPAC) e ácido homovalínico (HVA) no Caudado Putamen (CPu).	26
5.4.4 Concentração tecidual de Serotonina (5-HT) e seu metabolito 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) no Caudado Putamen (CPu)	27
5.4.5 Concentração tecidual de Dopamina (DA) e seus metabólitos 3,4 diidroxifenilacético (DOPAC) e ácido homovalínico (HVA) na Área Tegmentar Ventral (ATV).	28
5.4.6 Concentração tecidual de Serotonina (5-HT) e seu metabolito 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) na Área Tegmentar Ventral (ATV).	29

5.4.7	Concentração tecidual de Dopamina (DA) e seus metabólitos 3,4 diidroxifenilacético (DOPAC) e ácido homovalínico (HVA) no Núcleo Accumbens (NAc).	30
5.4.8	Concentração tecidual de Serotonina (5-HT) e seu metabolito 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) no Núcleo Accumbens (NAc).	31
5.5	Resultados II.....	32
5.5.1	Testes Comportamentais	32
5.5.2	Campo Aberto	32
5.5.3	Labirinto em Cruz Elevado	32
6	DISCUSSÃO.....	35
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS	43

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Procedimento de ovariectomia. A) Anestesia e incisão lateral. B) Exposição do ovário. C) Laqueadura com linha cirúrgica do ovário. D) Remoção do ovário, re-introdução para a cavidade abdominal e sutura final com linha cirúrgica.	10
Figura 2 - Escada para treinamento de força HORNERBERG E FARRAR (2004).....	11
Figura 3 - Pesos e aparato de fixação	12
Figura 4 - Grupos experimentais	13
Figura 5 - fixação do aparato á cauda do animal.....	14
Figura 6 - Campo Aberto de acrílico para Ratos, Insight®.....	18
Figura 7 - Labirinto em Cruz Elevado.....	19
Figura 8. Carga máxima dos grupos CrônicoEx-Intacto e CrônicoEx-Ovx nas semanas 1, 6 e 12.	23
Figura 9: Efeito da OVX e treinamento de força na concentração tecidual de DA na SN.....	24
Figura 10: Efeito da OVX e treinamento de força na concentração tecidual de 5-HT na SN..	25
Figura 11: Efeito da OVX e treinamento de força na concentração tecidual de DA no CPu...	26
Figura 12: Efeito da OVX e treinamento de força na concentração tecidual de 5-HT no CPu.	27
Figura 13: Efeito da OVX e treinamento de força na concentração tecidual de DA na ATV.	28
Figura 14: Efeito da OVX e treinamento de força na concentração tecidual de 5-HT na ATV.	29
Figura 15: Efeito da OVX e treinamento de força na concentração tecidual de Dopamina DA no NAc.....	30
Figura 16: Efeito da OVX e treinamento de força na concentração tecidual de 5-HT no NAc.	31

Figura 17: Percentual de Entradas nos Braços Abertos e Tempo de Entrada nos Braços Abertos..	34
Figura 18: Entradas nos Braços Fechados.....	33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Efeitos da ovariectomia e treinamento de força na massa corporal (g) dos animais na semana 1 e semana 12.	22
Tabela 2 – Peso do útero.....	Erro! Indicador não definido.
Tabela 3 – Efeito da OVX e treinamento de força na concentração tecidual de DOPAC e HVA na SN.....	25
Tabela 4 – Efeito da OVX e treinamento de força na concentração tecidual de 5-HIAA na SN.	26
Tabela 5 – Efeito da OVX e treinamento de força na concentração tecidual de DOPAC e HVA no CPu.....	Erro! Indicador não definido.
Tabela 6 – Efeito da OVX e treinamento de força na concentração tecidual de 5-HIAA na CPu.	28
Tabela 7– Efeito da OVX e treinamento de força na concentração tecidual de DOPAC e HVA na ATV..	29
Tabela 8 – Concentração tecidual de 5-HIAA na ATV.....	30
Tabela 9 – Concentração tecidual de DOPAC e HVA no NAc... Erro! Indicador não definido.	
Tabela 10 – Concentração tecidual de 5-HIAA no NA.....	32
Tabela 11 – Campo Aberto (CA)... ..	32
Tabela 12 – Labirinto em Cruz Elevado (LCE)..	34

LISTA DE ABREVIATURAS

- %EBA - Percentual de entradas nos braços abertos
- %EBF - Percentual de entradas nos braços fechados
- %TBA - Percentual de tempo nos braços abertos
- %TBF - Percentual de tempo nos braços fechados
- %TC - Percentual de tempo no centro
- 2 VMAT2 - Transportador vesicular de monoamina
- 5-HIAA - 5-hidroxiindolacético
- 5-HT - Serotonina
- ANOVA - Análise de variância
- ATV - Área Tegmentar Ventral
- CA - Campo aberto
- CLAE - Cromatografia líquida de alta eficiência
- Cpu - Caudado Putamen
- DA - Dopamina
- DAT - Transportador de dopamina
- DOPAC - Ácido diidroxifenilacético
- DP - Desvio padrão
- EBA - Entrada nos braços abertos

EBF - Entrada nos braços fechados

Excrônico-Intacto - Grupo experimental treinado intacto

Excrônico-Ovx - Grupo experimental treinado ovariectomizado

HVA - Ácido homovalínico

LCE - Labirinto em cruz elevado

MAO - Monoaminaoxidase

MMP-2 - Matriz extracelular do tipo dois

Nac - Núcleo Accumbens

OVX - Ovariectomia

Sed-Intacto - Grupo experimental sedentário intacto

Sed-Ovx - Grupo experiemntal sedentário ovariectomizado

SERT - Serotonina

SERT - Transportador de serotonina

SN - Substância Negra

SNC - Sistema nervoso central

SSRI - Inibidor seletivo de recaptção de serotonina

TBA - Tempo nos braços abertos

TC - Tempo no centro

TE - Total de entradas em todos os braços

TP - Tempo na periferia

TPH - Triptofano hidroxilase

TQC - Tempo de permanência nos quadrantes centrais

TQT - Tempo de permanência nos quadrantes periféricos

TRH - Terapia de reposição hormonal

UFSCar - Universidade Federal de São Carlos

RESUMO

O estrogênio é um hormônio esteróide conhecido por representar um papel relevante nos eventos celulares do desenvolvimento, manutenção da fisiologia do corpo e ações moduladoras no sistema nervoso central (SNC) durante a vida. O objetivo do presente estudo foi investigar o efeito da ovariectomia (OVX) e da intervenção do treinamento de força sobre as concentrações teciduais de dopamina (DA) e serotonina (5-HT) nas Vias Nigroestriatal e Mesolímbicas em ratas. Além disso, verificar parâmetros comportamentais de atividade exploratória em ambiente novo, nos testes do labirinto em cruz elevado (LCE) e campo aberto (CA). Ratas fêmeas foram divididas em quatro grupos: Sedentário (Sed-Intacto); Sedentário ovariectomizado (Sed-OVX); Treinado intacto (ExCrônico-Intacto); Treinado ovariectomizado (ExCrônico-OVX) (n = 10 por grupo). Foi realizado um período de 12 semanas de treinamento de força que consistia em subidas em uma escada vertical de 1,1 metros, com peso atado a cauda. As sessões foram realizadas uma vez a cada três dias com 4-9 subidas e 8-12 movimentos por escalada. A OVX causou alterações na concentração tecidual de DA e 5-HT nas Vias Mesolímbica e Nigroestriatal. No entanto o treinamento de força não foi capaz de reverter essas alterações. Nos testes comportamentais foi observado comportamento de ansiedade e decréscimo da atividade exploratória dos animais submetidos ao treinamento, independente da OVX. Os resultados deste estudo mostram que o estado de OVX altera as concentrações teciduais de DA e 5-HT, no entanto essas alterações parecem depender do tipo de receptor e da sua distribuição topográfica. O treinamento de força não foi capaz de reverter essas alterações.

Palavras-chave: ovariectomia; dopamina, serotonina, Via Mesolímbica e Via Nigroestriatal.

ABSTRACT

Estrogen is a steroid hormone known to play a role in cellular events important for development, maintenance of body physiology and modulatory actions on central nervous system during life. The aim of this study was to investigate the effect of ovariectomy (OVX) and the intervention of strength training on the tissue concentrations of dopamine (DA) and serotonin (5-HT) in the nigrostriatal and mesolimbic pathways in female rats. Also, check behavioral parameters of exploratory activity in novel environment, in testing of the plus maze (EPM) and open field (CA). Female rats were divided into four groups: Sedentary (Sed-Intact), ovariectomized Sedentary (Sed-OVX) Trained intact (Intact-ExCrônico) Trained ovariectomized (OVX-ExCrônico) (n = 10 per group). We conducted a period of 12 weeks of strength training which consisted of increases in a vertical ladder of 1.1 meters, weight tied to its tail. The sessions were held once every three days with 4-9 and 8-12 uphill climb for motion. The OVX caused changes in tissue concentrations of DA and 5-HT in the mesolimbic and nigrostriatal pathways. However strength training has not been able to revert these changes. In behavioral tests of anxiety were observed behavior and decrease the exploratory activity of rats in the independent training (OVX). The results of this study showed that OVX alters the state of the tissue concentrations of DA and 5-HT but these changes seem to depend on the type of receptor and its topographic distribution. Strength training has not been able to reverse these changes.

Keywords: ovariectomy; dopamine, serotonin, the mesolimbic pathway and nigrostriatal.

1 INTRODUÇÃO

O estrogênio é um hormônio esteróide conhecido por representar um papel relevante nos eventos celulares do desenvolvimento e manutenção da fisiologia do corpo durante a vida. Devido sua ação em uma grande variedade de marcadores teciduais, sinaliza e regula múltiplas funções, exercendo influência sobre as características sexuais femininas, ciclo menstrual, desenvolvimento ósseo, equilíbrio do perfil lipídico, entre outras funções sistêmicas (MORISSETTE et al., 2008; GUYTHON; HALL, 2002).

Assim, ao longo da vida, o estrogênio está envolvido em várias ações biológicas incluindo ações no sistema nervoso central, atuando no período crítico do desenvolvimento embrionário de diferenciação sexual. Parece exercer efeitos permanentes relacionados à diferenciação organizacional do sistema nervoso central (SNC) entre machos e fêmeas (VELISKOVA, 2007; MCEWEN et al, 2002; SÁNCHEZ et al, 2010). Durante esse período, o estrogênio atua como um fator de crescimento modulando a plasticidade e diferenciação neuronal e continua a modular a função neuronal ao longo de toda a vida (SÁNCHEZ et al, 2010). Estudos correlacionam o papel do estrogênio na manutenção da função encefálica, modulação da locomoção, cognição e do estado mental (CARRE; CAMBIASSO, 2002; MAGGI et al., 2004; MORISSETTE et al., 2008). Outros estudos relatam que o estrogênio altera estratégias cognitivas por modular a regulação da função dopaminérgica estriatal, (QUINLA et al, 2008).

O papel neuroprotetor do estrogênio tem sido amplamente documentado em modelo animal de desordens neurológicas (AMANTEA et al, 2005). De acordo com Cry (2002), o estrogênio modula a atividade no encéfalo, induzindo benefícios nas doenças de Parkinson e Alzheimer. Deste modo, vários efeitos têm sido sugeridos pelas ações benéficas do estrogênio, incluindo sinaptogênese, proteção contra apoptose, atividade antiinflamatória e aumento do fluxo sanguíneo encefálico (MAGGI et al, 2004; GARCIA-SEGURA et al, 2001; AMANTEA et al, 2005). Além disso, vários neurotransmissores são modulados pela ação do estrogênio, incluindo serotonina, dopamina, glutamato, GABA, acetilcolina, conseqüentemente modulando funções cognitivas, humor e certos aspectos do comportamento locomotor (MORISSETTE et al., 2008; GRIGORIADIS; SEEMAN, 2002; McEWEN; ALVES, 1999; McEWEN et al , 2002)

Neste sentido, a literatura investiga a influência do estrogênio sobre o sistema dopaminérgico hipotalâmico bem como as regiões extra hipotalâmicas do encéfalo que controlam o movimento e o comportamento de humanos e animais (SÁNCHEZ, 2010). O estrogênio modula o sistema dopaminérgico, produzindo efeitos em diferentes níveis, celular, comportamental e em várias etapas da neurotransmissão dopaminérgica como: enzimas envolvidas na síntese e degradação da dopamina (DA), liberação de DA, transportador de DA (DAT), transportador vesicular de monoamina 2 (VMAT2), nos subtipos de receptores dopaminérgicos, bem como a ligação de receptores de DA aos seus segundos mensageiros (DI PAOLO et al, 1994; BACKMAN et al, 2006).

De modo semelhante, a literatura relata a ação do estrogênio sobre os neurônios serotoninérgicos. BETHEA et al., (2002), descreve que são encontrados receptores de estrogênio nos corpos celulares de neurônios serotoninérgicos nos núcleos da rafe, principal fonte de inervação serotoninérgica do SNC. O estrogênio é capaz de alterar a expressão dos genes que codificam a enzima triptofano hidroxilase (TPH), o transportador de serotonina (SERT), ou o gene do auto receptor 5HT_{1A}, bem como os genes que codificam as fosfatases, as quinases e proteínas acessórias. E ainda podem agir tanto sobre os neurônios serotoninérgicos ou sobre neurônios alvo que contém receptores cognatos que regulam a expressão da monoaminoxidase (MAO), conseqüentemente afetando a degradação de 5-HT. Além disso, o estrogênio poderia regular a expressão de 14 diferentes genes dos 13 tipos de receptor de 5-HT acoplados a proteína G ou a proteína em qualquer célula alvo que expresse qualquer uma das isoformas de receptor de 5-HT. O estrogênio parece atuar apenas nos receptores de 5HT acoplados a proteína G, todavia além desses receptores metabotrópicos o receptor 5HT₃ é ionotrópico (ALEX; PEHEK, 2007)

Entretanto, o estrogênio se mostra capaz de neuromodular tanto a ação da DA quanto da 5-HT. E, além disso, de acordo com, DI GIOVANNI (2010), a 5-HT interage com a DA para neuromodular sua ação, na Via Nigroestriatal e na Via Mesolímbica. Desta maneira, neurônios serotoninérgicos provenientes dos núcleos dorsal e medial da rafe enviam projeções para corpos celulares dopaminérgicos na Substância Negra (SN), na Área Tegmentar Ventral (ATV) e para suas respectivas áreas terminais no Caudado Putamen (CPu) e Núcleo Accumbens (NAc) (AZMITIA et al., 1978; VAN DER KOOY et al., 1980; DI GIOVANNI et al., 2010). Assim a 5-HT pode neuromodular a ação da DA, porém essa neuromodulação pode representar um papel dual e antagônico, dependendo da ativação, ou

não, dos receptores das aminas envolvidas e da interação entre elas. (DI MATTEO et al., 2002). Dados eletrofisiológicos e neuroquímicos mostram que a 5-HT pode exercer complexos efeitos na atividade de neurônios mesencefálicos dopaminérgicos mediado pelos seus vários subtipos de receptores (ALEX; PEHEK, 2007).

Neste sentido, vários estudos têm investigado a ação dos receptores 5-HT no sistema dopaminérgico. No que diz respeito à modulação na Via Nigroestriatal, há evidências que agonistas de 5-HT_{2A} 3,4 methylenedioxymethamphetamine induz a liberação de DA na SN e CPu (GUDELSKY et al., 1994; DI MATTEO et al., 2002). A ação excitatória da 5-HT sobre a DA na SN e CPu, estimula a liberação de DA. Por outro lado, na Via Mesolímbica, há uma maior ação serotoninérgica ligando-se a receptores 5-HT_{2C}, mediando efeitos inibitórios sobre a atividade elétrica dos neurônios dopaminérgicos e liberação de DA (DI GIOVANNI et al., 2010; DI MATTEO et al., 2001; POMPEIANO et al., 1994; EBERLE-WANG et al., 1997; ABRAMOWSKI et al., 1995).

Embora a interação entre 5-HT e DA tenha sido extensivamente estudada, ainda há questões a serem esclarecidas. Neste sentido alterações nas monoaminas encefálicas DA e 5-HT tem sido relacionadas à etiologia de desordens do sistema nervoso central tais como, Parkinson, Alzheimer, Esquizofrenia, Depressão, Síndrome Pré Menstrual e Depressão Pós Natal (DI GIOVANNI et al., 2010; ALEX; PEHEK, 2007; MORISSETTE et al., 2008; DI MATTEO et al., 2001). Além disso, os baixos níveis de estrogênio, que são relacionados com o período da menopausa, têm sido relacionados como um período que predispõe ao fator de risco para o desenvolvimento de tais patologias, devido ao decréscimo da neureoproteção e neuromodulação atribuídos ao estrogênio. (KUPPERS et al., 2000; SÁNCHEZ et al, 2010; ALEX;.PEHEK, 2007).

O período em que ocorre decréscimo nos níveis estrogênicos é caracterizado pela literatura epidemiológica como menopausa. Neste período ocorre a ausência do ciclo menstrual (amenorréia) por pelo menos 12 meses consecutivos (HARLOW e SIGNORELLO; 2000). Esse processo se deve a quantidade escassa de folículos no ovário, o que é insuficiente para manter o ciclo menstrual (VOORHUIS, ONLAND-MORET et al, 2010). Este período define o fim do período reprodutivo da mulher (FADDY e GOSDEN 1996). Segundo TE Velde; Pearson (2002), a idade para o início da menopausa varia amplamente entre as mulheres, sendo que a idade média de ocorrência está entre 40 e 60 anos.

Outro aspecto importante na caracterização da menopausa é o declínio natural dos hormônios ovarianos, principalmente o estrogênio (MALTAIS, DESROCHES et al., 2009). Este declínio tem sido associado com o aparecimento de sintomas como ondas de calor, suor noturno, distúrbios de sono, aumento da frequência urinária, déficit de memória, ansiedade, depressão e maior incidência de patologias neurológicas (NACHTIGALL, 1998; CYR, 2002; CYR, 2002, MORISSETTE et al., 2008) Além disso, é evidenciada pela literatura a influência da menopausa sobre vários órgãos e sistemas (DUZENLI, OZDEMIR et al. 2007).

Experimentalmente, a menopausa pode ser mimetizada por meio da retirada dos ovários de ratas, e está associado com o aumento do risco de desenvolvimento de doenças coronarianas, diabetes *mellitus*, perda de músculo esquelético (sarcopenia), perda de massa mineral óssea (osteopenia) (SHIGUEMOTO et al, 2007), mudanças da composição corporal, perfil lipídico, deposição de gordura (LEITE et al, 2009), aumento de marcadores inflamatórios (PRESTES et al, J. 2009) e diminuição da atividade física (KEMMELER; LAUBER, 2004). Atualmente existe uma crescente preocupação com os efeitos da menopausa devido ao aumento dos fatores de risco para o desenvolvimento de patologias. Nesse sentido, terapias com o objetivo de prevenir e reverter essas mudanças inclui a reposição hormonal, dieta e exercício físico (LATOURET et al., 2001).

A terapia de reposição hormonal (TRH) é prescrita para suplementar as concentrações diminuídas de hormônios ovarianos. Em contrapartida, a TRH não é universalmente aceita, principalmente pelas contra-indicações, baixa adesão, relutância e aversão por parte de algumas mulheres (devido aos efeitos colaterais) e ainda a possibilidade do desenvolvimento de alguns tipos de câncer (TAYLOR, 1997; MORAN et al., 2007).

A literatura reporta que TRH é capaz de reverter quadros de obesidade, resistência à insulina, diminuição da ingestão de alimentos, depósitos de gorduras e ainda promover mudanças no perfil lipídico (SUBBIAH, 1998; LIU, 1994) podem também prevenir a sarcopenia e osteopenia (SPILA et al, 2001; SORENSEN et al, 2001, GORZEK et al, 2007). Além de reverter sintomas motores, cognitivos e emocionais. (VEGETO et al, 2008; BOURQUE et al, 2009; SÁNCHEZ et al, 2010)

Outra possibilidade de tratamento é o consumo de alimentos com alto teor de fitoestrogênios, encontrados principalmente na soja, que visa combater os sintomas e doenças

relacionadas à menopausa. As recomendações para o consumo destes tipos de alimentos se baseiam no fato da redução dos sintomas da menopausa, melhora da função cardiovascular e óssea (GALLO et al., 2005).

Associado as recomendações citadas, o exercício físico também tem sido prescrito como uma intervenção não-farmacológica para prevenir e reverter os efeitos da ovariectomia e menopausa (KEMMLER et al., 2004; CORRIVEAU et al., 2008). O exercício melhorara parâmetros funcionais e físicos como a composição corporal, força muscular, capacidade cardiorrespiratória e densidade mineral óssea (ELAVSKY; MCAULEY, 2009). Além disso, uma gama de estudos tem sido dirigida para a regulação da atividade física na neurogenese do encéfalo adulto e no envelhecimento encefálico (FABEL; KEMPERMANN, 2008), melhora a função cognitiva e o estado de humor (PRAAG, 2008). Complementarmente, estudos em roda de corrida têm mostrado efeitos antidepressivos do exercício em modelo animal. (BRENÉ et al, 2007).

Diversas modalidades de exercícios são recomendadas para promover a melhora destes parâmetros como, por exemplo, exercícios contínuos e intervalados (caminhadas e corridas), exercícios de flexibilidade e o treinamento de força. Entretanto, o treinamento de força ainda não é comumente utilizado como uma intervenção terapêutica no tratamento da menopausa (BROCHU et al., 2009).

Estudos do nosso laboratório com ratas OVX submetidas à intervenção do treinamento de força, mostrou efeitos benéficos sobre vários órgãos e sistemas como redução do perfil lipídico de ratas OVX (LEITE et al., 2009), na atividade das MMP-2 da matriz extracelular do tendão (PEREIRA et al, 2010), na atividade da MMP-2 no músculo esquelético (PRESTES et al., 2009). Adicionalmente em mulheres menopausadas, o treinamento de força foi benéfico para o sistema imune e força muscular, atribuindo uma melhor qualidade de vida a esta população (PRESTES et al., 2009).

No entanto, há uma lacuna na literatura em relação ao efeito de treinamento força em alterações ao SNC. Estudos que investigaram os efeitos do exercício no SNC utilizaram o protocolo de treinamento aeróbio como roda de corrida voluntária. De acordo com Meeussen, (2005; 1995) o exercício é capaz de promover mudanças na síntese e metabolismo de monoaminas durante o exercício, no entanto há uma discrepância de resultados em relação aos protocolos (Meeussen, 2001), pois, tem sido relatado que exercício

aeróbio por si só não é capaz de reverter ou minimizar os efeitos dos baixos níveis de estrogênio (GORZEK et al, 2007; BERCHTOLD et al, 2001).

Frente às pesquisas encontradas na literatura e apoiando-se nos resultados do nosso laboratório, o presente estudo propôs investigar o efeito do treinamento de força, ainda não estudado, sobre as possíveis alterações nas concentrações teciduais de DA e 5-HT nas Vias Nigroestriatal e Mesolímbicas de ratas OVX.

Em um segundo estudo, ratas OVX nas mesmas condições experimentais, foram avaliadas em testes comportamentais no Labirinto em Cruz Elevado (LCE) e Campo Aberto (CA). Esse estudo teve o objetivo de observar se há mudanças nos parâmetros comportamentais da atividade exploratória em ambiente novo, sobre a condição de baixos níveis de estrogênio associado ou não a intervenção do exercício.

2 JUSTIFICATIVA

Existe uma lacuna na literatura em relação ao efeito de treinamento força em alterações do SNC. Estudos que investigaram os efeitos do exercício no SNC utilizaram o protocolo de treinamento aeróbio como roda de corrida voluntária. De acordo com Meeusen, (2005; 1995) o exercício é capaz de promover mudanças na síntese e metabolismo de monoaminas durante o exercício, no entanto há uma discrepância de resultados em relação aos protocolos (Meeussen, 2001). Entretanto, tem sido relatado que exercício aeróbio por si só não é capaz de reverter ou minimizar os efeitos dos baixos níveis de estrogênio (GORZEK et al, 2007; BERCHTOLD et al, 2001).

Frente as pesquisas encontradas na literatura e apoiando-se nos resultados do nosso laboratório, o presente estudo propôs investigar o efeito do treinamento de força, ainda não estudado, sobre as possíveis alterações nas concentrações teciduais de DA e 5-HT nas Vias Nigroestriatal e Mesolímbicas de ratas OVX.

O treinamento de força tem crescido em popularidade devido à segurança e grandes resultados com diversas patologias associadas com o início da menopausa, como a osteopenia, sarcopenia, diabetes, doenças cardiovasculares, entre outras. Entretanto o treinamento de força ainda não é rotineiramente tido como uma intervenção terapêutica no tratamento da menopausa. Devido a esse fato, a justificativa deste estudo se baseia na necessidade do melhor entendimento sobre as influências do treinamento de força nas alterações das concentrações teciduais de DA e 5-HT nas Vias Nigroestriatal e Mesolímbicas de ratas OVX.

OBJETIVOS

O presente estudo teve como objetivo:

-Investigar o efeito da OVX e da intervenção do treinamento de força sobre as concentrações teciduais de DA e 5-HT nas Vias Nigroestriatal e Mesolímbicas de ratas.

-Verificar e comparar os parâmetros comportamentais da atividade exploratória em ambiente novo nos testes de LCE e CA, entre grupos de ratas: sedentárias intactas, sedentárias OVX, submetidas ao treinamento de força e intactas, submetidas ao treinamento de força e OVX.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 ANIMAIS

Foram utilizadas 40 ratas *Wistar* (*Rattus norvegicus* var. *albinus*, *Rodentia*, *Mammalia*) com 12 semanas de vida e peso de 170 ± 30 g, obtidas do biotério central da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar). Os animais foram mantidos em gaiolas coletivas (5 ratas por gaiola), em condições controladas de ciclo de luz claro/escuro de 12/12hs e temperatura de $21 \pm 2^{\circ}\text{C}$, com livre acesso a água e alimentados com ração da marca Labina® (uma dieta com ração padrão para ratos fornecida pela Purina, Brasil).

3.2 APROVAÇÃO ÉTICA

A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Animais da Universidade Federal de São Carlos (CEP/UFSCar), São Carlos – SP, Brasil, sendo aprovado segundo parecer n° 048/2007. Todos os procedimentos realizados foram conduzidos de acordo com o guia para cuidados e uso de animais de laboratório (National Research Council, 1998)

3.3 PROCEDIMENTO CIRÚRGICO

O Procedimento para retirada dos ovários (ovariectomia-OVX), foi realizada quando os animais atingiram 13 semanas de idade, de acordo com a técnica descrita por Zarrow e McCarthy, (1964). Brevemente, os animais foram anestesiado com éter etílico e realizado uma pequena incisão (1-1,5 cm) bilateral entre a última costela e a coxa anterior, paralela a linha corporal (figura 1A). Em seguida, a fáscia muscular e os músculos

abdominais foram cuidadosamente divulsionados permitindo a identificação e exposição dos ovários (figura 1B). Imediatamente abaixo da fímbria foi realizada a ligadura com linha cirúrgica e remoção dos ovários (figuras 1 C; D). Após a remoção dos ovários, a musculatura e a pele foram suturados. Todos os animais permaneceram por uma semana para recuperação, em caixas individuais, após esse período foram recolocados em caixas coletivas e apenas 21 dias depois expostos a escada de treinamento.

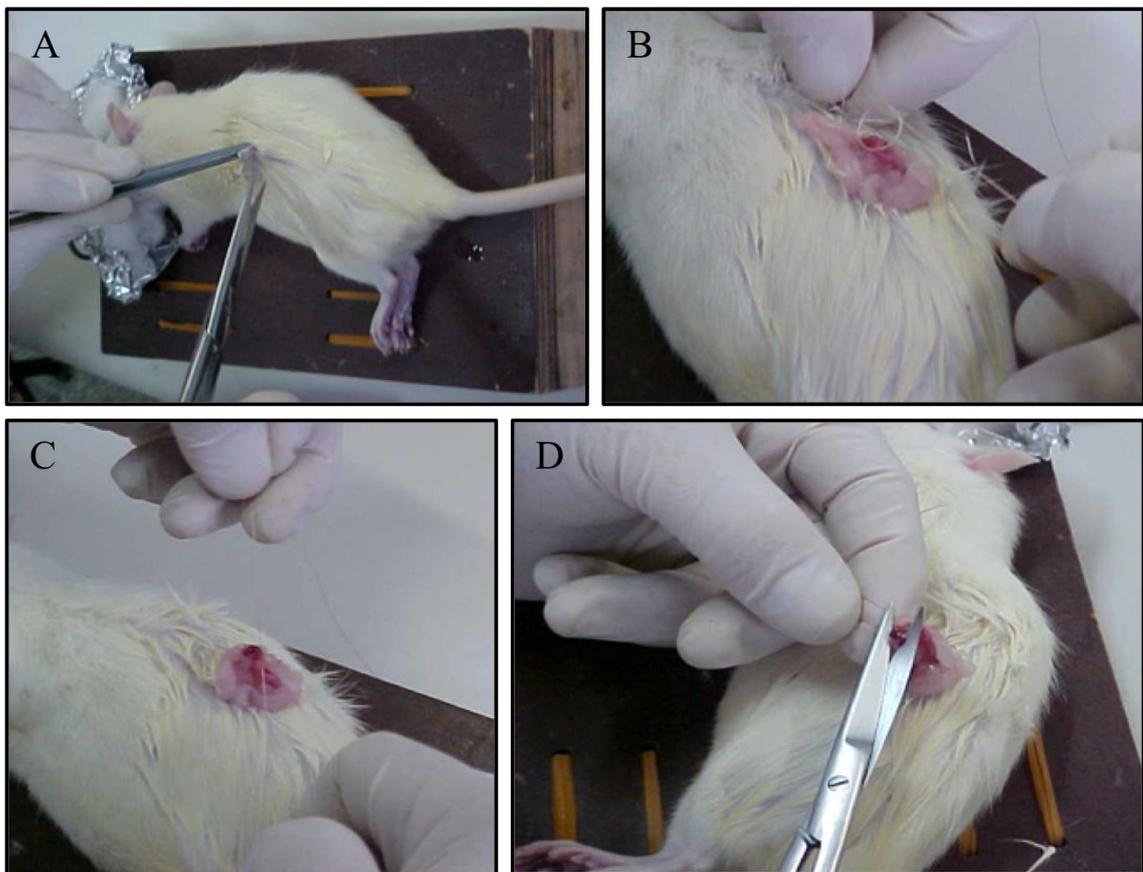


Figura 1 - Procedimento de ovariectomia. A) Anestesia e incisão lateral. B) Exposição do ovário. C) Laqueadura com linha cirúrgica do ovário. D) Remoção do ovário, re-introdução para a cavidade abdominal e sutura final com linha cirúrgica.

3.4 APARATOS

3.4.1 Escada

Escada vertical (110 x 18 cm, degrau de 2 cm, inclinação de 80°, 57 degraus) com uma gaiola (20 x 20 x 20 cm) na extremidade superior (figura 2).

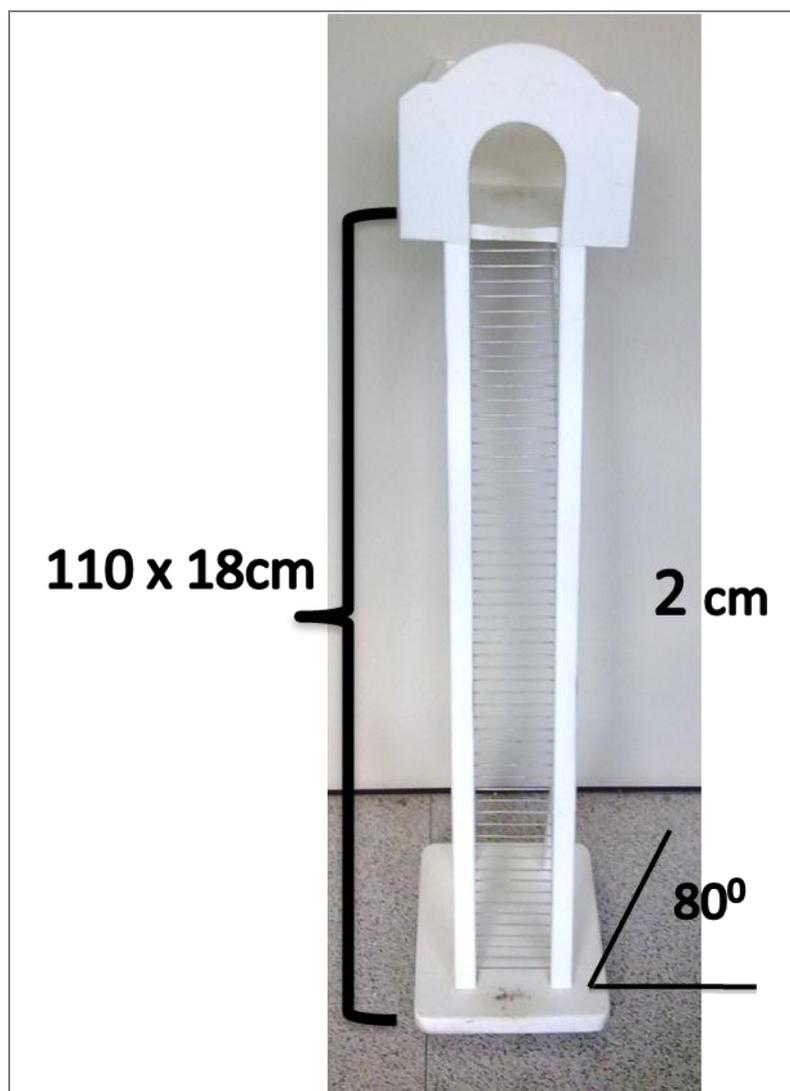


Figura 2 - Escada para treinamento de força Hornerberg e Farrar (2004).

3.4.2 Aparato de Carga

Para inserção das cargas foram utilizados, pesos de chumbo e tubos de polietileno de 80 ml (figura 3).



Figura 3 - Pesos e aparato de fixação

3.5 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS I

3.5.1 Grupos

Os animais foram randomicamente distribuídos em quatro grupos experimentais sendo 10 ratas por grupo (Figura 4).

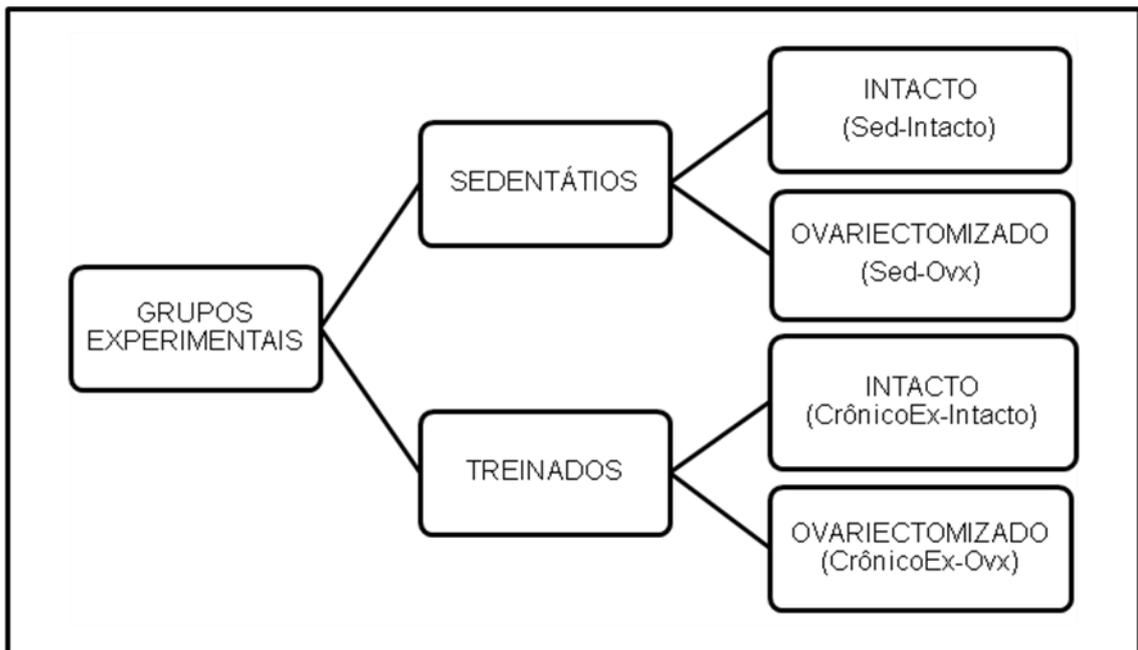


Figura 4 - Grupos experimentais

3.5.1.1 Grupos Sedentários

Os animais denominados sedentários, sendo sedentários intactos (Sed-Intacto) e sedentários ovariectomizados (Sed-OVX), foram assim classificados por não realizarem treinamento de força. Uma vez por semana, eram expostos a escada onde realizavam uma subida com o aparato atado a cauda, sem carga, com o objetivo de receberem estresse semelhante aos animais dos grupos que foram submetidos ao treinamento.

3.5.1.2 Grupos Treinados

Os animais denominados treinados, sendo treinados intactos (Crônico EX-Intacto) e treinados ovariectomizados (CrônicoEx-OVX), foram assim classificados por realizarem o treinamento de força. Os animais realizaram 26 sessões de treinamento de força com cargas progressivas a cada sessão de treinamento por um período de 12 semanas.

3.6 FIXAÇÃO DO APARATO DE CARGA

Para fixar o aparato, a cauda do animal era envolvida com fita auto-adesiva 3M®, em seguida foi inserido um cacho que segura os tubos e novamente envolvido com fita auto-adesiva (Figura5).



Figura 5 - fixação do aparato á cauda do animal.

3.7 PROTOCOLO DE TREINAMENTO DE FORÇA

O protocolo de treinamento de força foi adaptado de Hornberger; Farrar (2004), de acordo com as necessidades do presente estudo.

Adaptação: Inicialmente, os animais foram adaptados ao protocolo. Para tal, foram colocadas na base da escada com o aparato atado a cauda, sem carga de forma a se familiarizarem com o movimento de escalada. Quando necessário era utilizado um estímulo de pinça na cauda para que o animal se orientasse quanto à direção e subida contínua até o topo da escada e entrada na gaiola. Nesse momento havia um período de repouso de 120 segundos até a próxima escalada. Este procedimento foi repetido até que os animais conseguissem voluntariamente escalar a escada, três vezes consecutivas, sem estímulo.

Três dias após a adaptação, os animais foram submetidos ao teste de carga máxima.

Carga Máxima: A determinação da carga máxima foi considerada a primeira sessão de treinamento, sendo que a carga inicial foi de 75% do peso corporal de cada animal. Nas subidas subsequentes entre os referidos períodos de repouso foram adicionados 30gr a cada escalada, até que o animal atingisse o limite máximo de carregamento, não sendo capaz de completar a escalada com o peso proposto. A última carga em que o animal conseguiu escalar toda a escada até a entrada na gaiola foi considerada a carga máxima.

O treinamento: Dois dias após a determinação da carga máxima, seguindo o período de repouso, os animais realizavam um limite entre 4 á 8 escaladas com carga progressiva sendo a primeira carga determinada a partir da carga máxima. As quatro escaladas foram realizadas com 50%, 75%, 90% e 100% da carga máxima, respectivamente. Após as quatro escaladas, eram adicionados mais 30gr para cada subida, até no máximo 120gr. Este acréscimo de peso após as 4 escaladas permitiu determinar a carga máxima da próxima sessão.

3.8 Coleta de tecidos

Os grupos de animais que foram submetidos ao treinamento (ExCrônico-Intacto e ExCrônico-OVX) foram eutanasiados por decapitação em guilhotina imediatamente após a última sessão de treinamento (26^a sessão) e os animais dos grupos que não realizaram treinamento (Sed-Intacto e Sed-OVX), no mesmo período descrito acima. Os encéfalos foram imediatamente removidos, congelados em isopentano e armazenados à temperatura de -80°C.

3.8.1 Peso uterino

A eficácia do procedimento de OVX foi confirmada pela mensuração do peso uterino. Logo após a eutanásia, o útero dos animais foi retirado, pesado e comparado entre grupos (BERCHTOLD et al., 2001; KELNER et al., 1982; BRANHAM et al., 1993).

3.8.2 Dissecações das áreas encefálicas

Os encéfalos foram dissecados em criostato sob temperatura de -15 a -20°C em fatias coronais de 50µm. As áreas de interesse foram selecionadas e retiradas por meio de agulhas de ponta chata de 13 ou 15 Gauge, seguindo as coordenadas estereotáxicas do Atlas de Paxinos e Watson (2005). As fatias coronais de interesse apresentaram as coordenadas a partir do bregma +2,0mm à +1,0mm para o CPu e NAc, -5,0 á -6,0mm para SN e ATV.

3.9 Mensuração neuroquímica

As quantificações das concentrações de dopamina (DA), seus metabólitos ácido homovalínico (HVA) e ácido diidroxifenilacético (DOPAC), serotonina (5-HT) e seu metabólito 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) foram realizadas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) acoplada a detector eletroquímico (CANNAZZA, 2005); (PATEL, 2005). Para a determinação das concentrações de DA, HVA, DOPAC, 5-HT e 5-HIAA as amostras foram homogeneizadas em ácido perclórico 0,1M, centrifugadas a 13.150g, por 20 minutos, a 4°C. A concentração de todas as substâncias foram medidas dentro da faixa de linearidade do detector com volume de homogeneização de 200µl para o CPu, 150µl para o Nac e 80µl para SN e ATV.

Trinta microlitros do sobrenadante foram injetados automaticamente no sistema de cromatografia. O sistema CLAE consiste do cromatógrafo 2465 Waters® Alliance (Waters, Milford, MA-USA) com um detector eletroquímico 2465 de carbono vítreo e coluna de fase-reversa (Symmetry C18, 150mm x 4.6mm, 5µm e 100-Å de diâmetro de poro da partícula; Waters). A diferença de potencial foi ajustada para 800mV *versus* um eletrodo de referência de Ag/AgCl. A fase móvel, em fluxo de 0,8ml/minuto consistiu de ácido cítrico (50mM), KCL (2mM), EDTA (0,1mM), 9,86% metanol e 2,11% de acetonitrila, ajustada para pH3,2. A fase móvel foi filtrada a vácuo e degaseificada por ultra-som antes da aplicação.

A curva de calibração foi construída com soluções padrões de 1, 2,5, 5, 10, 25, 50, 100, 200, 400 e 600ng/ml de DA, DOPAC, HVA, 5-HT e 5-HIAA, injetadas no cromatógrafo em triplicata. O limite de detecção e quantificação foram, respectivamente, para dopamina: 0,5 e 1,66ng/ml, para o DOPAC: 0,7 e 2,4ng/ml, para o HVA: 1,9 e 6,4ng/ml, para

serotonina: 1,0 e 3,5 ng/ml e para 5-HIAA: 1,3 e 4,26 ng/ml. Quando as concentrações das amostras dessas substâncias ficavam abaixo do limite de quantificação, as mesmas eram excluídas. As concentrações das substâncias eram corrigidas pela massa das amostras de tecido dissecadas, sendo expressas em ng da substância por mg de tecido.

EXPERIMENTO II

Para o segundo estudo foram utilizados animais nas mesmas condições experimentais do experimento I.

3.10 Aparatos

3.10.1 Campo Aberto

Equipamento EP154- *Open Field* Acrílico Rato, Insight® que consiste de uma arena com superfície quadrada (100 x 80 x 60cm) dividida em 12 quadrantes sendo 4 quadrantes centrais e 8 periféricos (figura 6).

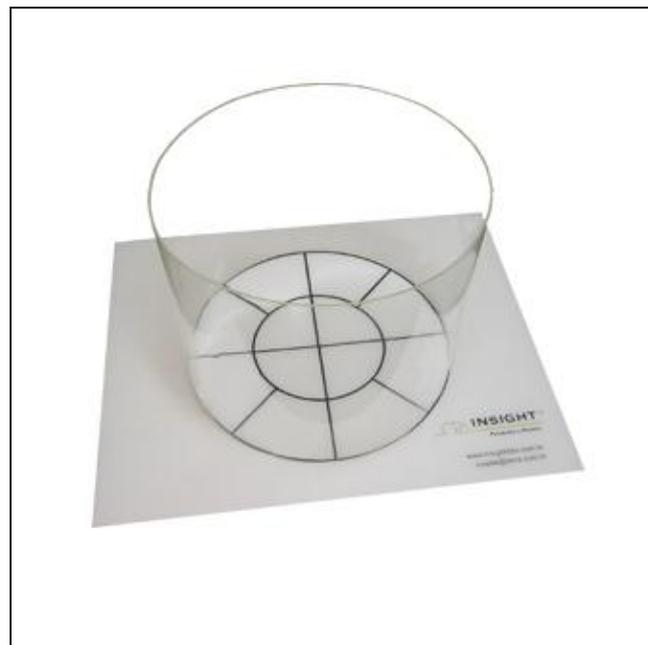


Figura 6 - Campo Aberto de acrílico para Ratos, Insight®.

3.10.2 Labirinto em Cruz Elevado

Equipamento em madeira, labirinto de dois braços fechado (50x10x40cm) e dois abertos (50x10x0,5cm), elevados á 50cm do chão (figura 7).



Figura 7 - Labirinto em Cruz Elevado

PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL II

3.10.3 Testes Comportamentais

Os animais foram testados no período de repouso, ou seja, 48hs após a última sessão de treinamento (26ª sessão) e foram analisados por 5 minutos em cada teste.

3.10.4 Campo Aberto (CA)

Os animais foram colocados no centro do CA para o início do teste. O comportamento exploratório foi mensurado como número total de cruzamentos (número de travessias entre os 12 quadrados, 4 centrais e 8 periféricos), tempo de permanência nos quadrantes centrais (TQC) e tempo de permanência nos quadrantes periféricos (TQP), número de levantamentos e tempo de imobilidade (WALSH; CUMMINS, 1976).

3.10.5 Labirinto em Cruz Elevada (LCE)

Os animais foram colocados no centro do LCE para o início do teste. Foram mensurados o total de entrada em todos os braços (TE), entrada nos braços abertos (EBA), entrada nos braços fechados (EBF), tempo nos braços abertos (TBA), percentual de entradas nos braços abertos (%EBA), percentual de entradas nos braços fechados (%EBF), percentual de tempo nos braços abertos (%TBA), percentual de tempo nos braços fechados (%TBF) e percentual de tempo no centro (%TC) (WALF; FRYE, 2007).

3.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os dados são apresentados como média \pm erro padrão da média. A análise estatística foi inicialmente realizada pelo teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov e pelo teste de homocedasticidade (critério de Barlet). Todas as variáveis apresentaram distribuição normal e homocedasticidade, Two-Way Anova foi usada para comparar as variáveis, levando-se em consideração dois fatores intervenientes (treinamento de força e ovariectomia). Foi aplicado o teste post-hoc de Tukey nos eventos de F ratio significante ($p \leq 0,05$). Todos os procedimentos estatísticos foram realizados no pacote estatístico Statistica® 6.1 (Stat. Soft Inc., Tulsa, OK, USA) e foi usado alfa de 0,05.

RESULTADOS I

3.12 MASSA CORPORAL

A massa corporal dos animais não apresentou nenhuma interação estatisticamente significativa entre as intervenções. Isso indica que o aumento na massa corporal da semana 1 para a semana 12 foi similar para todos os grupos (Tabela 2). Além disso, não houve diferença estatisticamente significativa quando feita a comparação intergrupos (Tabela 1).

Tabela 1. Efeitos da ovariectomia e treinamento de força na massa corporal (g) dos animais na semana 1 e semana 12.

Grupos experimentais (n=10 por grupo)	Semana 1	Semana 12
Sed-Intacto	247,7 ± 3,5	301,1 ± 8,8a
Sed-Ovx	249,0 ± 7,4	283,0 ± 9,7a
ExCrônico-Intacto	246,9 ± 7,0	289,0 ± 8,2a
ExCrônico -Ovx	246,3 ± 3,5	292,6 ± 6,4a

Os valores estão apresentados pela média ± erro padrão da média a Diferença estatisticamente significativa comparado a semana 1. $p \leq 0,05$.

3.13 CARGA MÁXIMA

Para a carga máxima durante as 12 semanas de treinamento, não houve nenhuma interação entre grupo e tempo, indicando que os grupos ExCrônico-Intacto e ExCrônico-OVX aumentaram a capacidade máxima de carregamento de maneira similar durante o treinamento (Figura 1). As cargas aumentaram após a semana 6 e semana 12 quando comparado com a semana 1, e após a semana 12 comparado com a semana 6. Deste modo, não houve nenhuma diferença nas cargas máximas entre ambos os grupos treinados em força cronicamente no período de 12 semanas. (Figura 8)

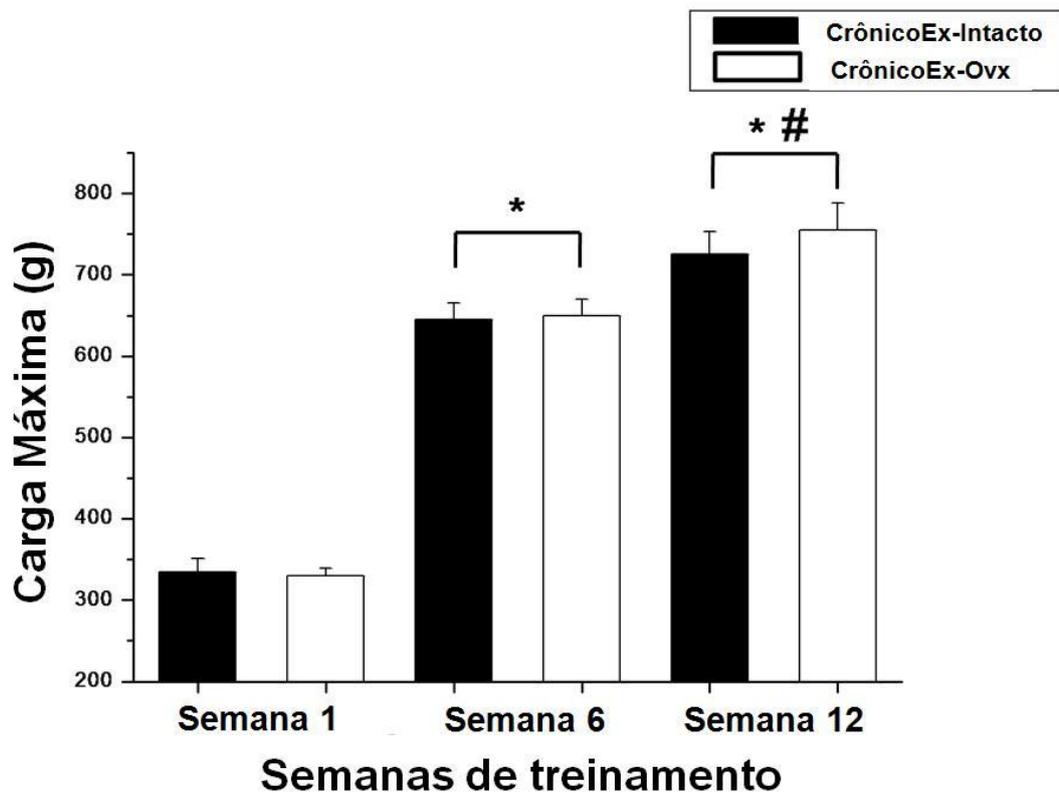


Figura 8. Carga máxima dos grupos CrônicoEx-Intacto e CrônicoEx-OVX nas semanas 1, 6 e 12. Os valores estão apresentados pela média \pm erro padrão da média, $p \leq 0,05$ ($n = 10$ por grupo). * Diferença estatisticamente significativa comparado com a semana 1; # Diferença estatisticamente significativa entre a semana 6 e semana 12.

3.14 CONFIRMAÇÃO DA OVARIETOMIA

A eficácia do procedimento de ovariectomia foi confirmada pela mensuração do peso uterino (BERCHTOLD et al., 2001). O peso uterino pode ser usado como um bioensaio indicativo da eficiência do procedimento de ovariectomia (KELNER et al., 1982; BRANHAM et al., 1993). Neste estudo foi encontrada diminuição estatisticamente significativa no peso uterino dos animais OVX comparados aos animais intactos (Tabela 2).

Tabela 2 – Peso do útero, $n = 10$ (média \pm erro padrão da média).

Peso do útero	Sed-Intacto	Sed-OVX	ExCrônico-Intacto	ExCrônico-OVX
	0,64 \pm 0,18	0,09 \pm 0,02 a; c	0,65 \pm 0,15	0,10 \pm 0,03 a; c

Diferença estatística considerando, Sed.-Intacto **a**; ExCrônico-Intactoc, ($p \leq 0,05$).

3.15 MENSURAÇÃO NEUROQUÍMICA

3.15.1 Concentração tecidual de dopamina (DA) e seus metabólitos 3,4 diidroxifenilacético (DOPAC) e ácido homovalínico (HVA) na Substancia Negra (SN).

A ovariectomia causou diminuição estatisticamente significativa na concentração tecidual de DA na SN, entre os grupos sedentários e entre os grupos treinados, não havendo diferença estatisticamente significativa do efeito do treinamento (Figura 9).

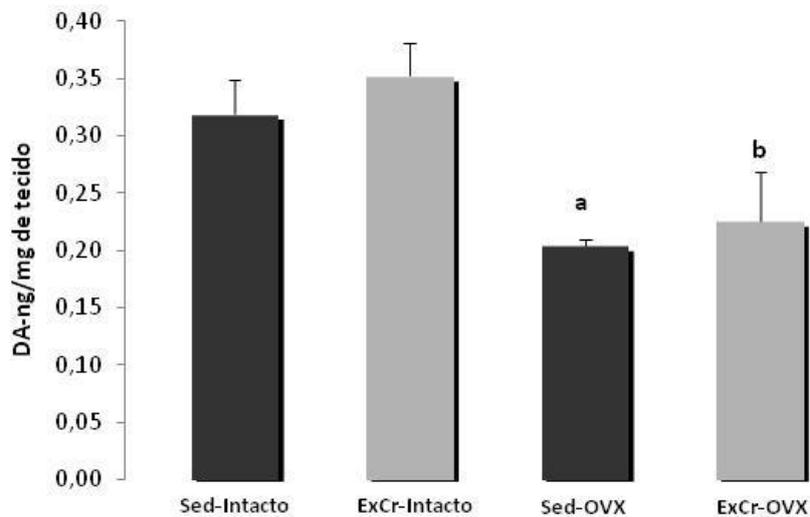


Figura 9: Efeito da OVX e treinamento de força na concentração tecidual de DA na SN. Os valores são apresentados pela média \pm erro padrão da média. Diferença estatística considerando, Sed-Intacto **a**; ExCr-Intacto **b**; ($P \leq 0,05$).

Não houve diferença estatística significativa na concentração tecidual de DOPAC e HVA na SN (Tabela 3).

Tabela 3 – Efeito da OVX e treinamento de força na concentração tecidual de DOPAC e HVA na SN, n = 10 (média ± erro padrão da média).

	Sed-Intacto	ExCrônico-Intacto	Sed-OVX	ExCrônico-OVX
DOPAC	0,18 ± 0,01	0,26 ± 0,02	0,21 ± 0,01	0,24 ± 0,04
HVA	0,05 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,06 ± 0,01

DOPAC= 3,4 diidroxifenilacético; HVA= ácido homovalínico; SN= substância Negra.

3.15.2 Concentração tecidual de serotonina (5-HT) e seu metabolito 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) na Substancia Negra (SN).

A ovariectomia causou diminuição estatisticamente significativa na concentração tecidual de 5-HT na SN, entre os grupos sedentários e entre os grupos treinados, não havendo diferença estatística do efeito do treinamento (Figura 10).

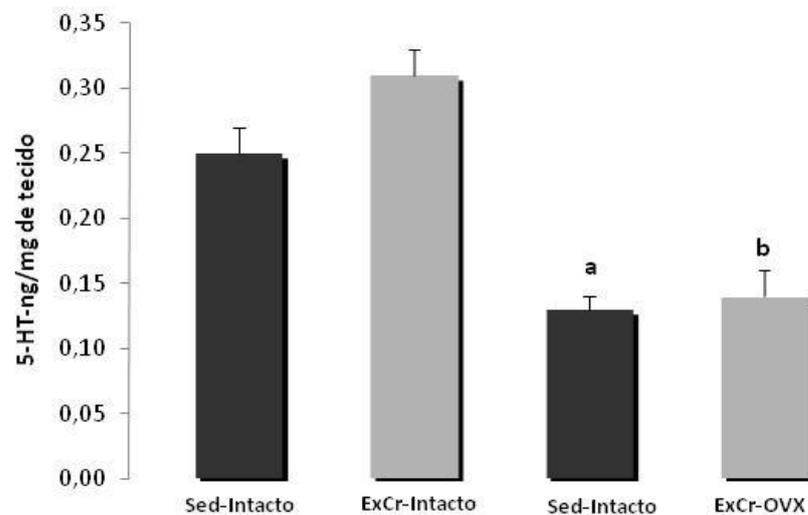


Figura 10: Efeito da OVX e treinamento de força na concentração tecidual de 5-HT na SN. Os valores são apresentados pela média ± erro padrão da média. Diferença estatística considerando, Sed-Intacto a; ExCr-Intacto b; , ($P \leq 0,05$).

Não houve diferença estatística significativa na concentração tecidual do metabolito 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) na SN (Tabela 4).

Tabela 4 – Efeito da OVX e treinamento de força na concentração tecidual de 5-HIAA na SN, n = 10 (média \pm erro padrão da média).

	Sed-Intacto	ExCrônico-Intacto	Sed-OVX	ExCrônico-OVX
5-HIAA	1,10 \pm 0,05	1,29 \pm 0,11	1,24 \pm 0,13	1,13 \pm 0,05

5-HIAA = 5-hidroxiindolacético

3.15.3 Concentração tecidual de dopamina (DA) e seus metabólitos 3,4 diidroxifenilacético (DOPAC) e ácido homovalínico (HVA) no Caudado Putamen (CPu).

Houve diferença estatística significante entre os grupos treinados, onde a ovariectomia causou diminuição da concentração tecidual de DA no CPu, no entanto não foi encontrada diferença estatística significante para o fator treinamento (Figura 11).

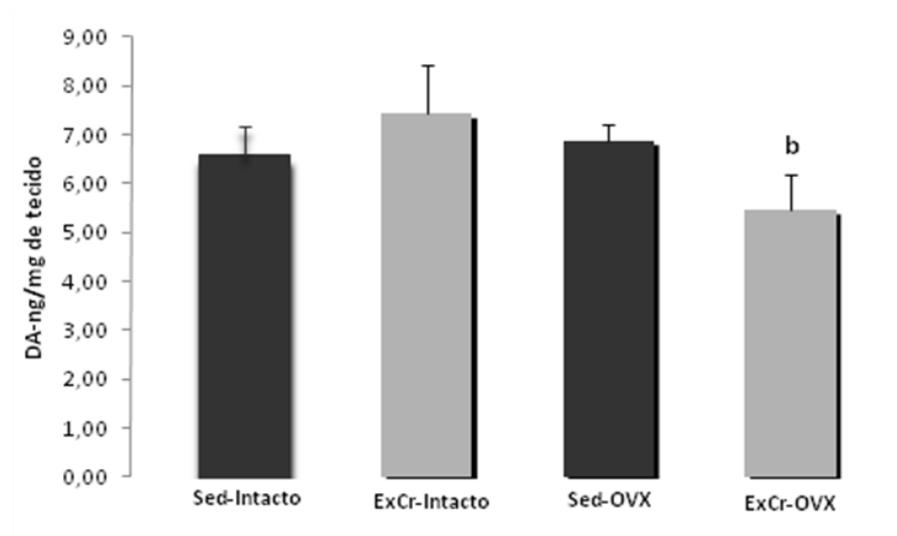


Figura 11: Efeito da OVX e treinamento de força na concentração tecidual de DA no CPu. Os valores são apresentados pela média \pm erro padrão da média. Diferença estatística considerando, ExCr-Intacto **b**; ($P \leq 0,05$).

Não houve diferença estatística significativa na concentração tecidual dos metabólitos DOPAC e HVA no CPu (Tabela 5).

Tabela 5 – Efeito da OVX e treinamento de força na concentração tecidual de DOPAC e HVA no CPu, n= 10 (média \pm erro padrão da média).

	Sed-Intacto	ExCrônico-Intacto	Sed-OVX	ExCrônico-OVX
DOPAC	4,42 \pm 0,18	4,41 \pm 0,18	4,72 \pm 0,32	4,34 \pm 0,09
HVA	0,91 \pm 0,02	0,96 \pm 0,05	1,07 \pm 0,06	0,93 \pm 0,08

DOPAC= 3,4 diidroxifenilacético; HVA= ácido homovalínico; SN= substância Negra.

3.15.4 Concentração tecidual de serotonina (5-HT) e seu metabolito 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) no Caudado Putamen (CPu).

A OVX causou diminuição estatisticamente significativa na concentração tecidual de 5-HT no CPu entre os grupos treinados, no entanto não ocorreu diferença estatisticamente significativa para o fator treinamento (Figura 12).

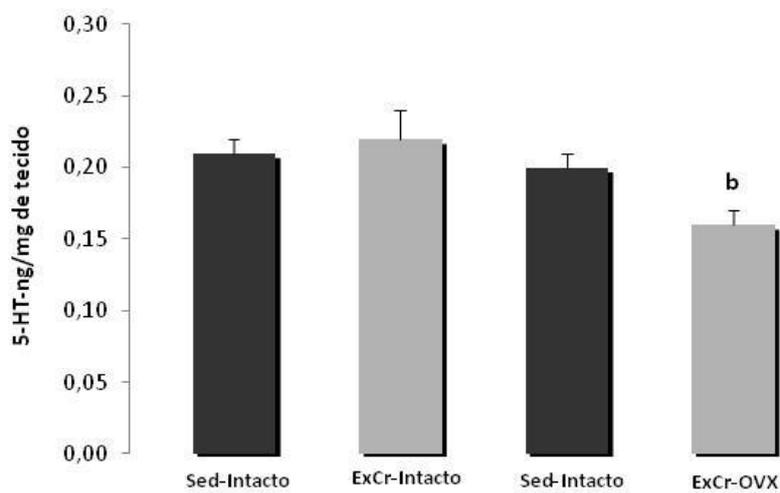


Figura 12: Efeito da OVX e treinamento de força na concentração tecidual de 5-HT no CPu. Os valores são apresentados pela média \pm erro padrão da média. Diferença estatística considerando, ExCr-Intacto **b**; ($P \leq 0,05$).

Não houve diferença estatisticamente significativa para concentração tecidual de 5-HIAA no CPu (Tabela 6).

Tabela 6 – Efeito da OVX e treinamento de força na concentração tecidual de 5-HIAA na CPu, n = 10 (média \pm erro padrão da média).

	Sed-Intacto	ExCrônico-Intacto	Sed-OVX	ExCrônico-OVX
5-HIAA	0,99 \pm 0,03	0,88 \pm 0,03	1,02 \pm 0,03	0,94 \pm 0,03

5-HIAA = 5-hidroxiindolacético; CPu= Caudado Putamen

3.15.5 Concentração tecidual de dopamina (DA) e seus metabólitos 3,4 diidroxifenilacético (DOPAC) e ácido homovalínico (HVA) na Área Tegmentar Ventral (ATV).

Houve diferença entre os grupos sedentários onde a ovariectomia causou aumento estatisticamente significativo na concentração tecidual de DA na ATV (Figura 13)

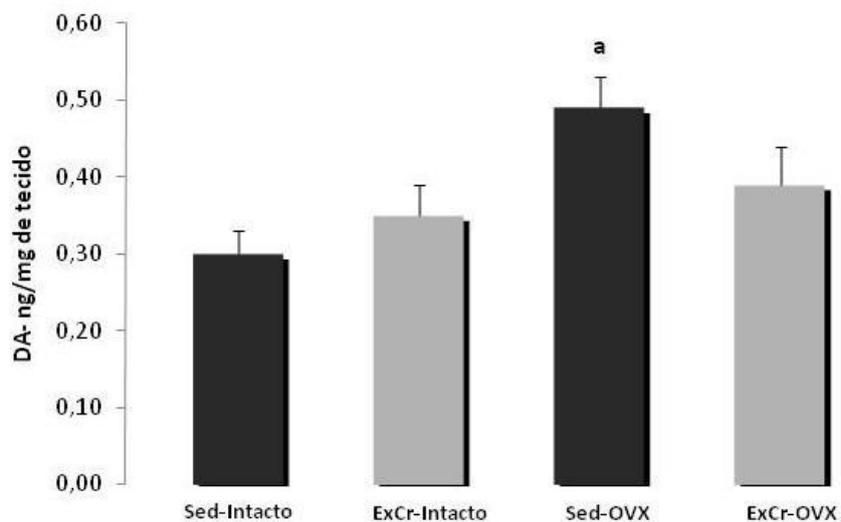


Figura 13: Efeito da OVX e treinamento de força na concentração tecidual de DA na ATV. Os valores são apresentados pela média \pm erro padrão da média. Diferença estatística considerando, Sed-Intacto a; ($P \leq 0,05$).

Não houve diferença estatística significativa na concentração tecidual dos metabólitos DOPAC e HVA na ATV (Tabela 7).

Tabela 7– Efeito da OVX e treinamento de força na concentração tecidual de DOPAC e HVA na ATV, n = 10 (média ± erro padrão da média).

	Sed-Intacto	ExCrônico-Intacto	Sed-OVX	ExCrônico-OVX
DOPAC	0,43 ± 0,03	0,42 ± 0,04	0,34 ± 0,04	0,33 ± 0,03
HVA	0,14 ± 0,01	0,13 ± 0,02	0,15 ± 0,01	0,11 ± 0,01

DOPAC= 3,4 diidroxifenilacético; HVA= ácido homovalínico; ATV= Área Tegmentar Ventral.

3.15.6 Concentração tecidual de serotonina (5-HT) e seu metabolito 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) na Área Tegmentar Ventral (ATV).

A OVX promoveu aumento estatisticamente significativo da 5-HT entre os grupos sedentários na ATV e não houve diferença estatística significativa para o efeito do treinamento (Figura 14)

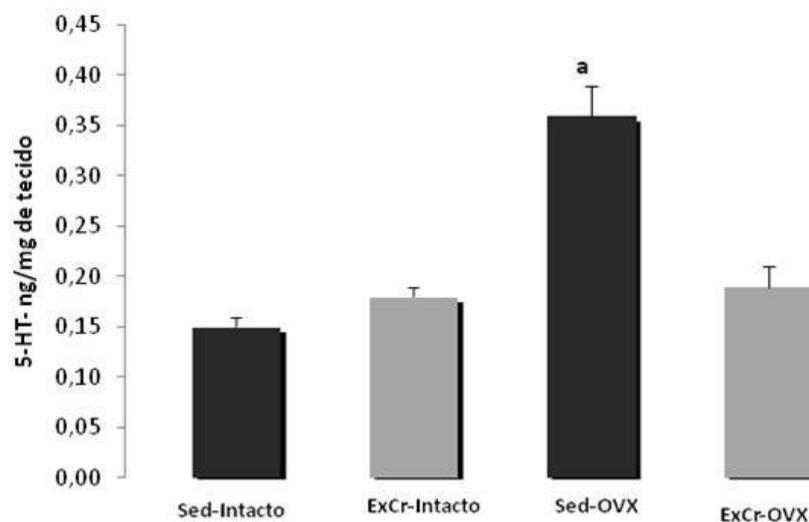


Figura 14: Efeito da OVX e treinamento de força na concentração tecidual de 5-HT na ATV. Os valores são apresentados pela média ± erro padrão da média. Diferença estatística considerando, Sed-Intacto **a**; ($P \leq 0,05$).

Não houve diferença estatística significativa na concentração tecidual do metabólito 5-HIAA na ATV (Tabela 8).

Tabela 8 – Concentração tecidual de 5-HIAA na ATV, n = 10 (média ± erro padrão da média).

	Sed-Intacto	ExCrônico-Intacto	Sed-OVX	ExCrônico-OVX
5-HIAA	1,10 ± 0,05	1,29 ± 0,11	1,24 ± 0,13	1,13 ± 0,05

5-HIAA = 5-hidroxiindolacético; ATV= Área Tegmentar Ventral

3.15.7 Concentração tecidual de dopamina (DA) e seus metabólitos 3,4 diidroxifenilacético (DOPAC) e ácido homovalínico (HVA) no Núcleo Accumbens (NAc).

Houve diferença estatística significativa no NAc entre os grupos treinados, onde a OVX causou aumento da concentração tecidual de DA, no entanto não houve diferença estatística significativa para o fator treinamento (Figura 15)

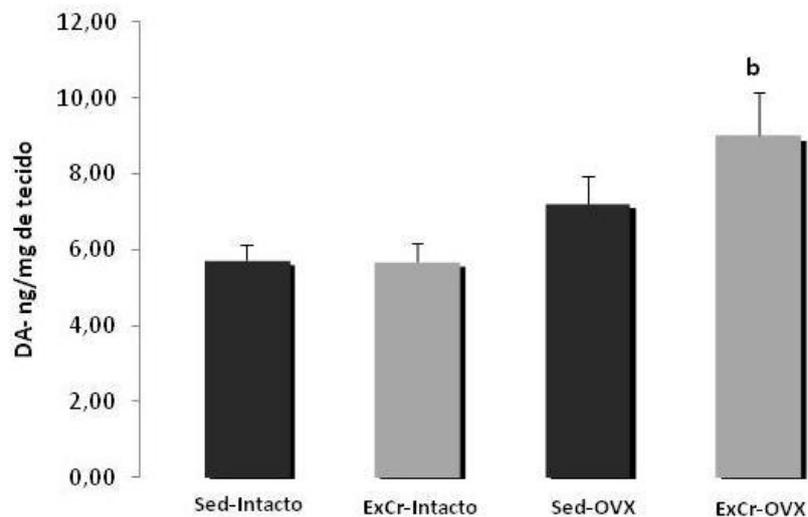


Figura 15: Efeito da OVX e treinamento de força na concentração tecidual de Dopamina DA no NAc. Os valores são apresentados pela média ± erro padrão da média. Diferença estatística considerando, ExCr-Intacto **b**; ($P \leq 0,05$).

Não houve diferença estatística significativa na concentração tecidual de DOPA e HVA no NAc (Tabela 9).

Tabela 9 – Concentração tecidual de DOPAC e HVA no NAc, n = 10 (média ± erro padrão da média).

	Sed-Intacto	ExCrônico-Intacto	Sed-OVX	ExCrônico-OVX
DOPAC	0,18 ± 0,01	0,26 ± 0,02	0,21 ± 0,01	0,24 ± 0,04
HVA	0,05 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,06 ± 0,01

DOPAC= 3,4 diidroxifenilacético; HVA= ácido homovalínico; NAc= Núcleo Accumbens.

3.15.8 Concentração tecidual de Serotonina (5-HT) e seu metabolito 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) no Núcleo Accumbens (NAc).

A OVX causou aumento estatisticamente significativo na concentração tecidual de 5-HT no NAc entre os grupos sedentários e o treinamento não promoveu diferença estatística significativa (Figura 16).

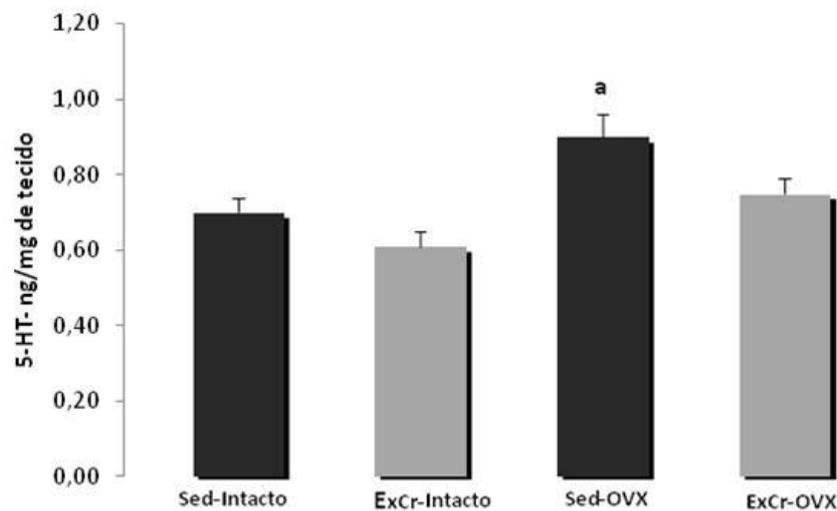


Figura 16: Efeito da OVX e treinamento de força na concentração tecidual de 5-HT no NAc. Os valores são apresentados pela média ± erro padrão da média, Sed-Intacto a; ($P \leq 0,05$).

Não houve diferença estatisticamente significativa na concentração tecidual de 5-HIAA no NAc (Tabela 10).

Tabela 10 – Concentração tecidual de 5-HIAA no NAc, n = 10 (média ± erro padrão da média).

	Sed-Intacto	ExCrônico-Intacto	Sed-OVX	ExCrônico-OVX
5-HIAA	1,12 ± 0,03	1,01 ± 0,04	1,13 ± 0,04	1,11 ± 0,03

5-HIAA= 5-hidroxiindolacético; NAc= Núcleo Accumbens

4 Resultados II

4.1 Testes Comportamentais

4.2 Campo Aberto

O treinamento promoveu decréscimo estatisticamente significativo no total de cruzamentos e a OVX causou aumento estatisticamente significativo no tempo de imobilidade (Tabela 11).

Tabela 11 – Campo Aberto (CA) n = 10 (média ± erro padrão da média).

	Sed-Intacto	ExCr-Intacto	Sed-OVX	ExCr-OVX
Tempo no Centro	19,89 ± 4,32	9,91 ± 2,36	10,9 ± 2,96	8,22 ± 2,94
Tempo na Periferia	274 ± 4,26	281,5 ± 4,13	282,9 ± 3,69	287,33 ± 3,03
Levantamento	31,89 ± 1,94 b	21,4 ± 3,15	28,5 ± 2,27	19,78 ± 2,40
Imobilidade	31,11 ± 9,38	42,8 ± 12,10	23,5 ± 3,42	45,3 ± 9,6 c
Total de cruzamentos	71,7 ± 5,7	50,8 ± 4,33 a	60,5 ± 3,8	45,8 ± 5,5

Diferença estatística considerando, Sed-Intacto **a**; Sed-OVX **c**, ($p \leq 0,05$).

4.3 Labirinto em Cruz Elevado

Não houve diferença estatística significativa nas Entradas nos Braços Fechados (Figura 17).

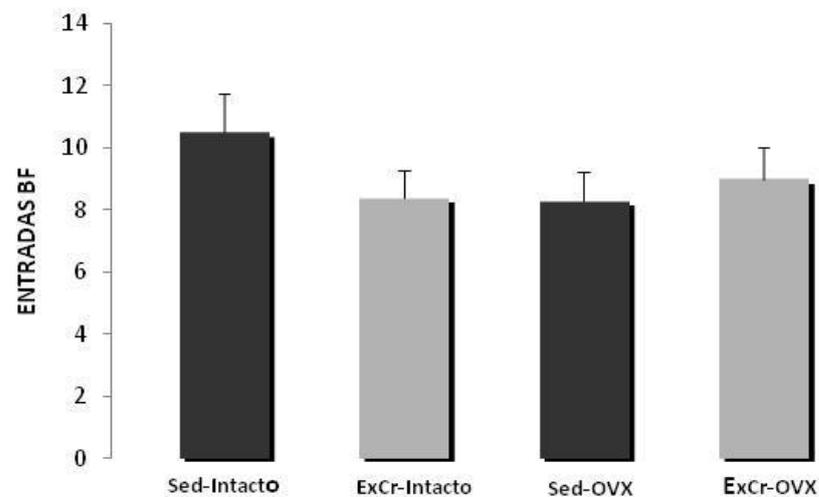


Figura 17: Entradas nos Braços Fechados. Os valores são apresentados pela média \pm erro padrão da média.

Houve diferença estatisticamente significativa, onde o treinamento causou decréscimo no Total de Entradas (TE), decréscimo na Entrada nos Braços Abertos (EBA), decréscimo no Tempo nos Braços Abertos (TBA). E ainda causou diferença estatística significante promovendo aumento no percentual de Entradas nos Braços Fechados (%EBF) (Tabela 12).

Tabela 12 – Labirinto em Cruz Elevado (LCE), n = 10 (média ± desvio padrão).

	Sed-Intacto	ExCrônico-Intacto	Sed-OVX	ExCrônico-OVX
TE	15,7 ± 2,09 b	10,05 ± 1,33	12,9 ± 1,62	11,33 ± 1,27
EBA	5,2 ± 1,15 b	2,1 ± 0,60	4,6 ± 1,08	2,33 ± 0,58
TBA	43,09 ± 7,53 b	23,37 ± 7,14	33,23 ± 8,41	17,06 ± 5,76
%EBF	70,35 ± 4,56	84,15 ± 4,39 a	66,29 ± 4,86	79,79 ± 4,48
%TBF	66,05 ± 3,70	71,52 ± 3,45	70,07 ± 4,09	70,77 ± 3,48
%TC	19,59 ± 2,01	20,69 ± 2,07	18,86 ± 2,45	23,54 ± 2,04

Diferença estatística considerando, Sed-Intacto **a**; ExCrônico- Intacto **b**; ($p \leq 0,05$).

TE-Total de Entradas; EBA-Entrada nos Braços Abertos; TBA-Tempo nos Braços Abertos; %EBF- Percentual de Entradas nos Braços Fechados; %TBF- Percentual de tempo nos Braços Fechados; %TC- Percentual de tempo no Centro.

Houve diferença estatística significativa no Percentual de Entradas nos Braços Abertos (%EBA) e no Percentual de Tempo nos Braços Abertos (%TBA) indicando decréscimo no grupo EXCr-Intacto comparado com o grupo Sed-Intacto (Figura 18).

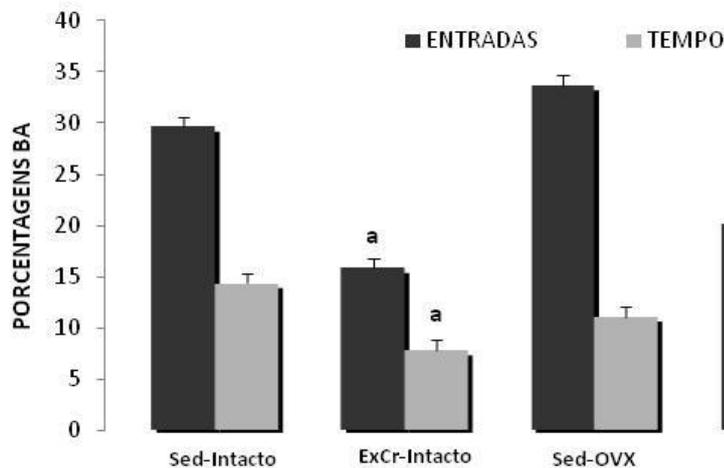


Figura 18: Percentual de Entradas nos Braços Abertos e Tempo de Entrada nos Braços Abertos. Os valores são apresentados pela média ± erro padrão da média. Diferença estatística considerando, Sed-Intacto **a**; ($P \leq 0,05$).

5 DISCUSSÃO

O propósito deste estudo foi analisar a influência da OVX e do treinamento de força sobre a concentração tecidual de DA e 5-HT nas Vias Nigroestriatal e Mesolímbica de ratas OVX comparadas com ratas intactas, sedentárias ou submetidas ao treinamento de força. Parâmetros comportamentais, no CA e LCE, entre todos os grupos, também foram observados em um estudo paralelo com animais nas mesmas condições experimentais. A hipótese inicial foi parcialmente confirmada, sendo que a OVX promoveu alterações nas concentrações teciduais de ambas as aminas, DA e 5-HT, tanto na Via Nigroestriatal quanto na Mesolímbica, no entanto o treinamento de força não foi capaz de reverter tal alteração.

A massa corporal dos animais não mostrou diferença da semana 1 para semana 12 entre as intervenções, treinamento de força e OVX entre os grupos avaliados. Estudo com ratas OVX mostrou que a deficiência de estrogênio aumenta a massa corporal e diminui a atividade física em roda de corrida voluntária (GORZEK, 2006). Apesar de não ter ocorrido diferença na massa corporal, a carga de carregamento aumentou progressivamente, independente do fator OVX.

A carga máxima de carregamento aumentou em proporções similares para os grupos treinados cronicamente. Os estudos sobre geração de força muscular em animais OVX apresentaram diferentes resultados. Por exemplo, McCormick et al, (2004) mostraram que a força tetânica isométrica máxima do sóleo não foi afetada pela OVX em ratas jovens. No entanto, Moran et al, (2006) mostraram que durante a contração, diminui a ligação entre actina e miosina nas fibras musculares de camundongos fêmeas OVX. De acordo com os autores esta redução ocorreu na mesma proporção que a redução da força isométrica máxima. Em contrapartida, no presente estudo analisamos a capacidade máxima de carregamento no exercício de escalada em escada, uma avaliação mais geral da força que depende de vários grupos musculares, e não uma forma isolada como a utilizada nos estudos anteriormente citados. Além disso, pesquisas realizadas em nosso laboratório, não foram observadas diferenças na área de secção transversa muscular do tibial anterior e sóleo entre os animais intactos e OVX treinados (dados não publicados). Por esta razão, propomos a realização de mais estudos e diferentes tipos de análises da força geral e específica para avaliar estas alterações de desempenho.

Outro dado importante no estudo em questão foi a mensuração da concentração tecidual dos metabólitos de DA, DOPAC, HVA e do metabólito da 5-HT, 5-HIAA. Alterações dos níveis teciduais destas moléculas são interpretadas como alterações na atividade destes sistemas de monoaminas, integrando a síntese, liberação, recaptção e/ou metabolismo de monoaminas (CLAUSTRE et al., 1986; BAILEY et al., 2000; DALLA et al., 2008). Neste estudo optou-se por analisar os resultados da concentração dos neurotransmissores e metabólitos isoladamente. Esta decisão baseou-se na ausência de níveis detectáveis de alguns metabólitos em algumas áreas do encéfalo pela técnica utilizada. No entanto, alguns resultados foram encontrados, mas sem diferenças entre os grupos.

No presente estudo, o estado ovariano exerceu forte influência sobre a Via Nigroestriatal, causando diminuição significativa da concentração tecidual de DA e 5-HT na SN e CPu. Esses dados estão de acordo com Ferraz et al., (2008) que demonstraram que a condição de OVX aumenta a lesão por 6-OHDA (hidroxidopamina) no Sistema Nigroestriatal. Estudos com ratas *knock-out* para receptor de estrogênio mostraram a influência do estrogênio como neuromodulador, representando um papel essencial na integridade funcional do sistema dopaminérgico (KÜPPERS, 2008). Além disso, uma série de estudos experimentais e também em *in vitro*, têm estabelecido que, o estrogênio regula a expressão de parâmetros chave da neurotransmissão dopaminérgica tais como densidade de receptores, atividade do transportador (DAT) e atividade da tirosina hidroxilase (TH) (IVANOVA et al, 2001; IVANOVA & BEYER, 2003; KARAKAYA et al., 2007; KÜPPERS, 2008).

De modo semelhante, Benmansour et al., (2009) também mostraram uma interação entre estrogênio e sistema serotoninérgico, utilizando ratas OVX, onde a condição de OVX influenciou a modulação do clearance de 5-HT e do transportador de serotonina (SERT) sobre a ação de um inibidor seletivo de recaptção de serotonina (SSRI) no hipocampo. De acordo com (BENMANSOUR et al., 2009), houve decréscimo dos níveis de 5-HT sobre a condição de OVX. Os resultados do presente estudo corroboram dados da literatura, uma vez que a concentração tecidual de 5-HT diminuiu significativamente sobre a condição de OVX.

Neste sentido, tem sido observado na literatura de forma muito abrangente, o mecanismo de neuromodulação, pelo qual o estrogênio regula as funções dopaminérgicas e serotoninérgicas sobre diversas etapas de ambas as neurotransmissões. Ressaltando a relevância da ação do estrogênio sobre os neurônios dopaminérgicos, desde a neurogenese embrionária e

se estendendo ao longo da vida, modulando diferentes passos da neurotransmissão incluindo componentes pré e pós sinápticos (KÜPPER et al., 2000; SAUNDERS-PULLMAN et al., 1999; CRY et al., 2002; MORISSETTE et al., 2008).

BECKER et al, (1999), relata que ocorre diminuição na concentração extracelular de DA no núcleo estriado 2-3 semanas após a OVX. A densidade do DAT e a atividade da adenilato ciclase são diminuídas, assim como a densidade do receptor D1 em relação a ratas intactas. Por outro lado, em um estudo após 3 meses de OVX, observou-se hipersensibilidade dos sítios de ligação do receptor D2 no estriado e um aumento da taxa de alta e baixa afinidade de ligações agonistas D2 (DI PAOLO et al.,1988). Assim a OVX resulta em decréscimo de índices neuroquímicos da função dopaminérgica diminuindo a função do receptor D1, enquanto aumenta a ligação ao receptor D2 (BECKER et al, 1999).

Além desses mecanismos de neurotransmissão, muitos estudos investigaram a relação da ação do estrogênio sobre a Via Nigroestriatal, evidenciando mecanismos de neuroproteção e neuromodulação da função da DA (SÁNCHEZ et al., 2010; BOURQUE et al., 2009; VEGETO et al., 2009; KÜPPERS et al., 2008; MORISSETTE et al., 2008; FERRAZ et al., 2008; MORISSETTE et al., 2008^a ; MORISSETTE et al., 2008^b; BRANN et al., 2007; KÜPPERS et al., 2000; LERANTH et al., 2000).

De modo semelhante, a literatura relata a ação do estrogênio sobre os neurônios serotoninérgicos. Bethea et al., (2002), descreve que são encontrados receptores de estrogênio nos corpos celulares de neurônios serotoninérgicos no núcleo da rafe, principal fonte de inervação serotoninérgica do SNC. O estrogênio é capaz de alterar a expressão dos genes que codificam a enzima triptofano hidroxilase (TPH), o transportador de serotonina (SERT), ou o gene do auto receptor 5HT_{1A}, bem como os genes que codificam as fosfatases, as quinases e proteínas acessórias. Podem agir ainda tanto sobre os neurônios serotoninérgicos ou sobre neurônios alvo que contêm receptores cognatos que regulam a expressão da monoaminaoxidase (MAO), conseqüentemente afetando a degradação de 5-HT. Além disso, o estrogênio poderia regular a expressão de 14 diferentes genes dos 13 tipos de receptor de 5-HT acoplados a proteína G ou a proteína em qualquer célula alvo que expresse qualquer uma das isoformas de receptor de 5-HT.

Deste modo, o estrogênio se mostra capaz de neuromodular tanto a ação da DA quanto da 5-HT. No presente estudo as concentrações teciduais de DA e 5-HT apresentaram

comportamentos análogos nos mesmos núcleos. Esses dados corroboram com a descrição de Di Giovanni, G. et al., (2010) que a 5-HT interage com a DA para neuromodular sua ação, na Via Nigroestriatal e na Via Mesolímbica.

Desta maneira, neurônios serotoninérgicos provenientes dos núcleos dorsal e medial da rafe enviam projeções para corpos celulares dopaminérgicos na SN e ATV e para suas respectivas áreas terminais no CPu e NAc (AZMITIA et al., 1978; VAN DER KOOY et al., 1980; DI GIONANNI, G. et al., 2010). Assim, a 5-HT pode neuromodular a ação da DA, porém essa neuromodulação pode representar um papel dual e antagônico, dependendo da ativação, ou não, dos receptores das aminas envolvidas e da interação entre elas (DI MATTEO et al., 2002).

Vários estudos têm investigado a ação dos receptores 5-HT no sistema dopaminérgico. No que diz respeito à modulação na Via Nigroestriatal, há evidências que agonistas de 5-HT_{2A} 3,4 methylenedioxymethamphetamine induz a liberação de DA na SN e CPu (GUDELSKY et al., 1994; DI MATTEO et al., 2002). A ação excitatória da 5-HT sobre a DA na SN e CPu estimulam a liberação de DA.

Entretanto, no presente estudo podemos inferir que na via Nigroestriatal a condição de OVX diminui a ação excitatória da 5-HT sobre a DA, apresentando baixa concentração tecidual comparado com ratas intactas. Isso pode ter ocorrido tanto pela diminuição da ação da 5-HT quanto pela redução do estímulo de neuromodulação do estrogênio, evidenciando a importância da ação estrogênica para função da Via Nigroestriatal (KÜPPERS et al., 2000). A intervenção do treinamento de força não foi capaz de alterar tal condição.

Estudos com ratas OVX expostas a roda de corrida voluntária mostraram que quando ocorre a retirada dos ovários, há um decréscimo na contagem dos números de voltas na roda de corrida, sendo restabelecido pela reposição de estrogênio (BERCHTOLD et al., 2001). Ratas após 5 semanas de OVX expostas a roda de corrida voluntária, corriam uma distância de 5km dia, no entanto outro grupo com o mesmo tempo de OVX que receberam reposição de estradiol, corriam 12Km dia (KADI et al., 2000). Esses dados sugerem que o hormônio ovariano estrogênio pode ser fundamental para regular a atividade física em roedores. Outros estudos com roedoras fêmeas OVX mostraram forte correlação da ação do estrogênio em regular a atividade física e especulam que isso ocorra em alguma região do

sistema nervoso central, que poderia influenciar a motivação ou a vontade de correr no animal (GORZEK et al., 2006).

Interessantemente, no presente estudo, a OVX causou aumento da concentração tecidual de DA e 5-HT na via mesolímbica. O sistema dopaminérgico mesolímbico parece estar envolvido na modulação de funções subalternas a regiões corticais e límbicas, tais como motivação e controle emocional. Além disso, o caminho dopaminérgico mesolímbico é sensível a uma variedade de estressores físicos e emocionais (LE MOAL; SIMON, 1991; ROTH et al., 1995; DI GIOVANNI et al., 2010).

Chávez, (2010) estudou o efeito do estrogênio nos receptores de 5-HT, DA e no nível do transportador de dopamina (DAT) no NAc, observando que em ratas OVX houve redução dos níveis de DAT e aumento da densidade de receptores D2 sem diferença nos receptores de 5-HT_{2A}. Entretanto no núcleo NAc e CPu há predominância de receptores 5-HT_{2C} que mediam ações inibitórias, enquanto os receptores 5-HT_{2A} mediam ações excitatórias sobre a liberação de DA. (DI MATTEO, et al., 2001).

Na literatura tem sido observado, que em estruturas mesolímbicas há uma maior ação serotonérgica ligando-se a receptores 5-HT_{2C}, mediando efeitos inibitórios sobre a atividade elétrica dos neurônios dopaminérgicos e liberação de DA (DI GIOVANNI et al., 2010; DI MATTEO et al., 2001; POMPEIANO et al., 1994; EBERLE-WANG et al., 1997; ABRAMOWSKI et al., 1995). O presente estudo limita-se por não esclarecer o aumento da concentração tecidual de 5-HT na ATV e no NAc em paralelo com o aumento da concentração tecidual de DA nas mesmas estruturas. Pouco se sabe sobre a ação do estrogênio de forma específica sobre os subtipos de receptores serotonérgico (BETHEA et al., 2002; ALEX; PEHEK; 2007). Há também uma grande especulação ainda pouco esclarecida sobre a interação dos diferentes subtipos de receptores de 5-HT modulando a ação da DA (Di Giovanni, et al., 2010).

Para o aumento da concentração tecidual de DA na ATV e NAc, podemos especular que possa ter ocorrido um mecanismo intrínseco de regulação, ou seja, os baixos níveis de estrogênio podem ter provocado diminuição do DAT (CHÁVEZ et al, 2010), e este fato pode ter causado aumento da concentração de DA como um mecanismo compensador de *up regulation*, e a DA possivelmente estaria se ligando aos receptores inibitórios D2

(CHÁVEZ, et al, 2010; Becker, et al., 1999) levando a prevalência da ação de um efeito inibitório nesta via.

Observando os dados da mensuração neuroquímica descrita acima, em um estudo paralelo, foram avaliados parâmetros comportamentais nos testes de CA e LCE, com animais submetidos às mesmas condições experimentais. Nosso objetivo foi investigar o comportamento espontâneo em ambiente novo desses animais, para tentar corroborar informações com os dados neuroquímicos.

Deste modo, avaliando o teste no CA não houve diferença entre os grupos para os parâmetros Tempo no Centro (TC) e Tempo na periferia (TP), comportamentos que denotam atividade exploratória (FROHICH, J., et al., 2001). No entanto, comparando com o grupo Sed-Intacto, o grupo ExCrônico-Intacto diminuiu o total de cruzamentos e o número de levantamentos, comportamentos esses que são avaliando como comportamento de ansiedade e atividade exploratória em ambiente novo (IBAEZA et al., 2010; MORGAN et al., 2004; PRUT, L., and BELZUNG, C., 2002). Assim, é possível inferir que o exercício, independente do fator OVX, demonstra comportamento de ansiedade e diminuição da atividade exploratória em ambiente novo. Além disso, grupo ExCrônico-OVX apresentou maior tempo de imobilidade comparado ao grupo Sed-OVX, mais uma vez sugerindo comportamento de ansiedade nos animais treinados.

Corroborando com os dados do teste anterior, no LCE foi observado estado de ansiedade nos animais submetidos ao treinamento de força, independente da OVX. O comportamento no LCE reflete o conflito do roedor em preferir a área protegida (braços fechados) e sua inata motivação por explorar um ambiente novo (braços abertos) (WALF. A.A and FRYE, A.C., 2007). Assim, no presente estudo não foi observada diferença nas Entradas nos Braços Fechados (EBF), não havendo diferença entre os grupos para atividade locomotora. No entanto, o Total de Entradas (TE) em ambos os braços, abertos e fechados, decresceu para o grupo ExCrônico-Intacto comparado com os animais do grupo Sed-Intacto, denotando menor atividade exploratória em ambiente novo, o que também pode indicar comportamento de ansiedade. De tal modo, o grupo ExCrônico-Intacto decresceu o número, tempo, percentual de tempo e o número de entradas nos braços abertos, enquanto aumentou o percentual de entrada nos braços fechados comparados com Sed-intacto, indicando comportamento de ansiedade.

Desta maneira, os resultados dos testes comportamentais no CA e LCE denotam que o treinamento de força parece causar comportamento de ansiedade nos animais. No entanto, os dados neuroquímicos não corroboram com esses resultados, prevalecendo o efeito da OVX na concentração tecidual da DA e 5-HT onde o exercício não foi capaz de alterar tal condição. Estudos com ratas OVX indicam que o estrogênio regula a atividade física (GORZEK, F.J., et al., 2007). O presente estudo trás uma investigação inédita neste sentido, utilizando um protocolo de treinamento de força. Sugerimos que outros testes comportamentais possam avaliar a atividade espontânea dos animais submetidos ao treinamento de força e que haja, em um estudo futuro, a adaptação de um teste na própria escada objetivando observá-los no ambiente em que foram adaptados.

Se os resultados deste estudo podem ser extrapolados para mulheres, isso não pode ser justificado, aqui apresentamos um estudo de investigação básica. Entretanto, deve-se levar em conta que mudanças significativas nos níveis de atividade física, incluindo parâmetros comportamentais, são ocorrências prováveis na condição de baixos níveis de estrogênio. Estudos sobre mulheres têm demonstrado que a terapia com estrogênio á curto e á longo prazo, após a menopausa, melhora o condicionamento físico (REDBERG et al., 2000). Obviamente, a situação em mulheres é muito mais complexa, sobretudo porque no envelhecimento há um decréscimo dos níveis de atividade física. No presente estudo, foi eliminada a influência do envelhecimento, usando ratas jovens, investigando os efeitos da OVX e não do envelhecimento.

Subtipos de receptores de 5-HT e DA e outros componentes sinápticos, como receptores e transportadores, precisam ser investigados e o mecanismo pelo qual o estrogênio regula a atividade física no SNC é um estudo de interesse futuro.

CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo mostraram que o estado de OVX altera as concentrações teciduais de DA e 5-HT nas Vias Nigroestriatal e Mesolímbica, sem haver diferença na concentração dos metabólitos. Essas alterações parecem depender do tipo de receptor e da sua distribuição topográfica. O treinamento de força, no entanto não foi capaz de reverter essas alterações.

Nos testes comportamentais o fator treinamento de força parece exercer comportamento de ansiedade e baixa atividade exploratória em ambiente novo, em todos os parâmetros significativamente avaliados.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAMOWSKI, D.; RIGO, M.; DUC, D.; HOYER, D.; STAUFENBIEL, M. Localization of 5-hydroxytryptamine_{2c} receptor protein in human and rats brain using specific antisera. **Neuropharmacology**, 34:1635-45, 1995

ALEX, K.D., PEHEK, A.E., Pharmacologic mechanisms of serotonergic regulation of dopamine neurotransmission. **Pharmacol Ther.**, 113(2), 296-320, 2007.

AMANTEA, D.; RUSSO, R.; BAGETTA, G.; CORASANITI, T.M. From clinical evidence to molecular mechanisms underlying neuroprotection afforded by estrogens. **Pharmacological Research**, 52, 119-132, 2005.

AZMITIA, E.C.; SEGAL, M. An autoradiographic analysis on the differential ascending projections of the dorsal and median raphe nuclei in the rats. **J. Comp. Neurol**, 179, 641-659, 1978.

BACKMAN, L.N.; NYBERG, L.; LINDENBERGER, U.; LI, S.C.; FARDE, L. The correlative triad among aging dopamine and cognitive: Current status and future prospects. **Neuroscience Biobehav. Rev.**, 30: 791-807, 2006.

BAEZA, I.; De CASTRO, M.N.; GIMÉNEZ-LIORT, L.; DE LA FUENTE, M. Ovariectomy, a model of menopause in rodents, causes a premature aging of the nervous and immune systems. **Journal of Neuroimmunology**, 219, 90-99, 2010.

BAILEY CP, ANDREWS N, MCKNIGHT AT, HUGHES J, LITTLE HJ. Prolonged changes in neurochemistry of dopamine neurons after chronic ethanol consumption. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, 66:153-161, 2000.

BECKER, B. J Gender differences in dopaminergic function in striatum and nucleus accumbens. **Pharmacol. Biochem.**, 64:803-812, 1999.

BECKER, J. B.; BEER, M. E.: The influence of estrogen on nigrostriatal dopamine activity: Behavioral and neurochemical evidence for both pre- and postsynaptic components. **Behav. Brain Res.** 19:27-33; 1986

BENMANSOUR, S.; PIOTROWSKI, P.J.; ALTAMIRANO, V.A.; FRAZER, A. Impact of ovarian hormones on the modulation of the serotonin transporter by Fluvoxamine. **Neuropsychopharmacology**, 34, 555-564, 2009.

BERCHTOLD, C.N.; KESSLAK, P.J.; PIKE, J.C.; ADLARD, A.P.; COTMAN, W.C. Estrogen and exercise interact to regulate brain-derived neurotrophic factor mRNA and protein expression in the hippocampus. **European Journal of Neuroscience**, 14, 1992-2002, 2001

BETHEA, L.C.; LU, Z.N.; GUNDLAH, C.; STREICHER, M.J. Diverse actions of ovarian steroids in serotonin neural system. **Frontiers in Neuroendocrinology**, 23, 41-100, 2002.

- BLOCK, E. Quantitative Morphological Investigations of the Follicular System in Women - Variations at Different Ages. **Acta Anatomica**, 14(1-2): 108-123,1952.
- BONOMO, S. M., RIGAMONTI, A. E., GUINTA, M. GALIMBERTI, D., GUAITA, A., GAGLIANO, M. G., MULLER, E. E., CELLA, S. G. Menopausal transition: A possible risk factor for brain pathologic events. **Neurobiol Aging**, 1016:05, 2007.
- BOURQUE, M.; DLUZEN, E.D.; Di PAOLO, T. Neuroprotective actions of sex steroids in Parkinson`s disease. **Frontiers in Neuroendocrinology**, 04-014, 2009.
- BRANHAM, W.S., ZEHR, D.R.; SHEEAN, D.M. Differential sensitivity of rat uterine growth and epithelium hypertrophy to estrogens and antiestrogens. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, 203, 297-303, 1993.
- BRANN, D.W.; DHANDAPANI, K.; WAKADE, C.; MAHESH, B. V.; KHAN, M.M. Neurotrophic and neuroprotective actions of estrogen: Basic mechanisms and clinical implications. **Steroids**, v.72(5), p. 381-405, 2007.
- BRENÉ, S.; BJORNEBEKK, A.; ABERG, E.; MATHÉ, A.A.; OLSON, L.; WERME, M. Running is rewarding na antidepressive. **Physiology & Behavior**, 92, 136-140, 2007.
- BROCHU, M., M. F. MALITA, et al. Resistance training does not contribute to improving the metabolic profile after a 6-month weight loss program in overweight and obese postmenopausal women., **J Clin Endocrinol Metab**, 94(9): 3226-33, 2009.
- CANNAZZA, G.; Di STEFANO, A.; MOSCIATTI, B.; BRAGHIROLI, D.; BARALDI, M.; PINNEN, F.; SOZIO, P.; BENATTI, C.; PARENTI, C. Detection of levodopa, dopamine and its metabolites in rat striatum dialysates following peripheral administration of L-DOPA prodrugs by mean of HPLC-EC. **J Pharm Biomed Anal**. v.36, p.1079-1084, 2005.
- CARRER, H.F.; CAMBIASSO, M.J. Sexua differentiation of the brain: gene estrogen and neurotrophic factors. **Cell. Moll. Neurobiol.**, 2: 479-500, 2002.
- CHAVEZ, C.; HOLLAU, M.; SCARR, E.; PAVEY, G.;GOGOS, A.; VAN DEN BUUSE, M. The effect of estrogen on dopamine and serotonin receptor and transporter leves in the brain: Na autoradiography study. **Brain Research**,1321, 51-59, 2010
- CLAUSTRE Y, RIVY JP, DENNIS T, SCATTON B. Pharmacological studies on stress-induced increase in frontal cortical dopamine metabolism in the rat. **Journal of pharmacology and experimental therapeutics**, 238:693-700, 1986.
- CORRIVEAU, P., A. PAQUETTE, et al. Resistance training prevents liver fat accumulation in ovariectomized rats. **Maturitas** 59(3): 259-67, 2008.
- CRAMER, D. W., H. XU, et al., Does incessant ovulation increase risk for early menopause? **Am J Obstet Gynecol** 172(2 Pt 1): 568-73, 1995.
- CRY, M.; CALON, F.; MORISSETTE, M.; Di PAOLO, T. Estrogenic modulation of brain activity: implications for Schizophrenia and Parkinson`s disease.**J. Psychiatry Neurosciense**, 27:12-17, 2002.

DALLA, C.; ANTONIOU, K.; KOKRAS, N.; DROSSOPOULOU, G.; PAPATHANASIOU, G.; BEKRIS, S.; DASKAS, S.; PAPADOPOULOU-DAIFOTI, Z. Sex differences in the effects of two stress paradigms on dopaminergic neurotransmission. **Physiol Behav.**, 93:595-605, 2008.

Di GIOVANNI, G.; ESPOSITO, E.; Di MATTEO, V. Role of serotonin central dopamine dysfunction. **Neuroscience & Therapeutics**, 16, 179-194, 2010.

Di MATTEO, V.; CACCHIO, M.; Di GIULIO, C.; ESPOSITO, E. Role of serotonin 2c receptor in the control of brain dopaminergic function. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, 71, 727-734, 2002.

DI PAOLO, T.; FALARDEAU, P.; MORISETTE, M.: Striatal D-2 dopamine agonist binding sites fluctuate during the rat estrous cycle. **Life Sci.** 43:665–672; 1988.

DUZENLI, M. A., K. OZDEMIR, et al. Effects of menopause on the myocardial velocities and myocardial performance index. **Circ J**, 71(11): 1728-33, 2007

EBERLE-WANG K, MIKELADZE Z, URYU K, CHESSELET M-F. Pattern of expression of the serotonin 2C receptor messenger RNA in the basal ganglia of adult rats. **J Comp Neurol**, 47, 384:233, 1997.

ELAVSKY, S. AND E. MCAULEY. Personality, Menopausal Symptoms, and Physical Activity Outcomes in Middle-Aged Women. **Pers Individ Dif** 46(2): 123-128, 2009.

FABEL, K.; KEMPERMANN, G. Physical activity and the regulation of neurogenesis in the adult and aging brain. **Neuromol Med.**, 10:59-66, 2008.

FADDY, M. J. AND R. G. GOSDEN. A model conforming the decline in follicle numbers to the age of menopause in women. **Hum Reprod** 11(7): 1484-6, 1996.

FERRAZ, C.A; MATHEUSSI, F.; SZAWKA, E.R.; RIZELIO, V.; DELATTRE, M.A.; RIGON, P.; HERMEL, ES. E., XAVIER, L.L.; ANSELMO-FRANCI, J A. Evaluation of estrogen neuroprotective effect on nigrostriatal dopaminergic neurons following 6-hydroxydopamine injection into the substantia nigra pars compacta or the medial forebrain bundle. **Neurochem Res**, 33:1238-1246, 2008.

FROHLICH J, MORGAN M, OGAWA S, BURTON L, PFAFF D. Statistical analysis of measures of arousal in ovariectomized female mice. **Horm Behav**, 39:39–47, 2001

GALLO, D., G. F. ZANNONI, et al. Characterization of the pharmacologic profile of a standardized soy extract in the ovariectomized rat model of menopause: effects on bone, uterus, and lipid profile. **Menopause** 12(5): 589-600, 2005.

GARCIA-SEGURA, L.M.; AZCOITIA, I.; DON CARLOS, L.L. Neuroprotective by estradiol. **Prog Neurobiol**, 63:29-60, 2001.

GORZEK, J. F., K. C. HENDRICKSON, et al. Estradiol and tamoxifen reverse ovariectomy-induced physical inactivity in mice. **Med Sci Sports Exerc** 39(2): 248-260, 2007.

- GUDELSKY GA, YAMAMOTO BK, NASH JF. Potentiation of 3,4-methylenedioxymethamphetamine-induced dopamine release and serotonin neurotoxicity by 5-HT₂ receptor agonists. **Eur J Pharmacol**, **30**,264:325, 1994.
- HARLOW, B. L. AND L. B. SIGNORELLO. Factors associated with early menopause. **Maturitas** 35(1): 3-9, 2000
- HORNBERGER T.A.; FARRAR R.P. Physiological hypertrophy of the FHL muscle following 8 weeks of progressive resistance exercise in the rat. **Can J Appl Physiol**. 2004; 29(1):16-31, 2004.
- IVANOVA, T.; KÜPPERS, E.; ENGELE, J.; BEYER, C. Estrogen stimulates brain-derived neurotrophic factor in embryonic mouse midbrain neurons through a membrane-mediated and calcium-dependent mechanism. **J. Neurosci. Res.**, 66, 221-230, 2001.
- IVANOVA. T.; BEYER, C. Estrogen regulates tyrosine hydroxylase expression in the neonate mouse midbrain. **J. Neurobiol**, 54, 638-647, 2003.
- KADI, F.C., KARLSSON, B. LARSSON, The effects of physical activity and estrogen treatment on rats and slow skeletal muscle following ovariectomy. **J. Muscle. Res. Cell. Motil.**, 23:335-339, 2002
- KARAKAYA, S.; KIPP, M.; BEYER, C. Estrogen regulates the expression and activity of the dopamine transporter (DAT) in astrocytes of the nigrostriatal system. **J. Neuroendocrinol**, 19, 682-690, 2007.
- KELNER, K.L., KIRCHICK, H.J.; PEACK Jr., E.J. Differential sensitivity of estrogen target tissues: The role of the receptors. **Endocrinology**, 111, 1986-1995, 1982.
- KEMMLER, W., D. LAUBER, et al. Benefits of 2 years of intense exercise on bone density, physical fitness, and blood lipids in early postmenopausal osteopenic women: results of the Erlangen Fitness **Osteoporosis Prevention Study (EFOPS)**. **Archives of Internal Medicine** 164(10): 1084-91, 2004.
- KÜPPERS, E.; KRUST, A.; CHAMBON, P.; BEYER, C.; Functional alterations of the nigrostriatal dopamine system in estrogen receptor- α knockout (ERKO) mice. **Psychoneuroendocrinology**, 33, 832-838, 2008.
- KÜPPERS, E.; IVANOVA, T.; KAROLCZAK, M.; BEYER, C. Estrogen: A multifunctional Messenger to nigrostriatal dopaminergic neurons. **Journal of Neurocytology**, 29, 375-385, 2000.
- LATOUR, M. G., M. SHINODA, et al. Metabolic effects of physical training in ovariectomized and hyperestrogenic rats. **J Appl Physiol** 90(1): 235-41, 2001
- Le MOAL, M.; SIMON, H. Mesocorticolimbic dopaminergic network: Functional and regulatory roles. **Physiol. Rev.**, 71, 155-234, 1999.
- LEITE, R. D., J. PRESTES, et al. Effects of ovariectomy and resistance training on lipid content in skeletal muscle, liver, and heart; fat depots; and lipid profile. **Appl Physiol Nutr Metab** 34(6): 1079-86, 2009.

- LEITE, R.D.,PRESTES, J PEREIRA, G.B, SHIGUEMOTO, G.E., PEREZ, S.E.. Menopause: highlighting the effects of resistance training. **Int. J. Sports Med.**,31(11):761-7, 2010
- LERANTH, C.; ROTH, H.R.; ELSWOTH, D.J.; NAFTOLIN, F.; HORVATH, L.T.;REDMOND Jr., E.D. Estrogen is essencial for maintaining nigrostriatal dopamine neurons in primates: Implications for Parkunso`s disease and menory. **The Journal of nNeurosciense**, 20 (23):8604,8609, 2000.
- MAGGI, A.; CIANA, P.; BELCREDITO, S.; VEGETO, E. Estrogen in the nervous system: mechanisms and nonreproductive functions. **Annu. Ver. Physiol.**, 66:291-313, 2004.
- MCCORMICK, K.M.; BURNS, K.L.; PICCONE, C.M.; GOSSELIN, L.E.; BRAZEAU, G.A. Effects of ovariectomy and estrogen on skeletal muscle function in growing rats. **J Muscle Res Cell Motil**, v.25, p.21–27, 2004.
- McEWEN, B. Estrogen actions throughout the brain. **Recent prog. Horm. Res**, v 57, p. 357-384, 2002.
- McEWEN, B. S. Estrogen action troughout the brain. **Recent. Prog. Horm. Res.**, 57, 357-384, 2002.
- McEWEN, B. S.; ALVES, S.E. Estrogen actions in the central nervous system. **Endocr. Rev.**, 20, 279-307, 1999.
- MEEUSEN, R. Exercise and the Brain:Insight in new therapeutic modalities. **Annals of transplantation**, v 10, n°4, p. 50-52, 2005
- MEEUSEN, R.; DE MEIRLEIR K. Exercise and brain neurotransmission. **Sports Med**, 20(3)160-188, 1995.
- MEEUSEN, R.;. FRANCESCA, M., PIACENTINI, DM., KENNY D M. Brain microdialysis in exercise reseach. **Sports Med** ;v 31 (14): p 965-983, 2001
- MORAN AL, WARREN GL, LOWE DA. Removal of ovarian hormones from mature mice detrimentally affects muscle contractile function and myosin structural distribution. **J Appl Physiol**. 100(2):548-59, 2006.
- MORAN, L. J., M. NOAKES, et al. Postprandial ghrelin, cholecystokinin, peptide YY, and appetite before and after weight loss in overweight women with and without polycystic ovary syndrome. **Am J Clin Nutr** 86(6): 1603-10, 2007.
- MORGAN, M.A.; SCHULKIN, J.; PFAFF, D.W. Estrogen and non-reproductive behavior related to activit and fear. **Neurosciense and Behavioral Reviews**, 28, 55-63, 2004.
- MORISSETTE, M.; AL SWEIDI, S.; CALLIER, S. Estrogen ans SERM neuroprotection i animal models of Parkinson`s disease. **Molecular and Cellular Endocrinology**, 209, 60-69, 2008^a.

MORISSETTE, M.; JOURDAIN, S.; AL SWEIDI, S.; MENNITI, S.F.; RAMIREZ, D.A.; Di PAOLO, T. Role of estrogen receptors in neuroprotection by estradiol against MPTP toxicity. **Neuropharmacology**, 52, 1509-1520, 2007

MORISSETTE, M.; LE SAUX, M.; ASTOUS, D.M.; JOURDAIN, S.; AL SWEIDI, S.; MORIN, N.; ESTRADA-CAMARENA, E.; MENDEZ, P.; GARCIA-SEGURA, L.M.; Di PAOLO, T. Contribution of estrogen receptors alpha and beta to the effects of estradiol in the brain. **Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology**, 108, 327-338, 2008.

MORISSETTE, M.; LE SAUX, M.; D ASTOUS, M.; JOURDAIN, S. ;AL SWEID, S.; MORIN, N.; ESTRADA-CAMARENA, E. MENDEZ, P.; GARCIA-SEGURA; M.L.; DI PAOLO, T. Contribution of estrogen receptors alpha and beta to the effects of estradiol in the brain. **Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology**, v 108, p. 327-338, 2008.

NACHTIGALL, L. E. The symptoms of perimenopause. **Clin Obstet Gynecol** 41(4): 921-7, 1998.

NATIONAL RESEARCH . **Guide for the care and use of laboratory animals**. Washington, D. C: National Academy Press, 1996

PATEL, B.A.; ARUNDELL, M.; PARKER, K.H.; YEOMAN, M.S.; O'HARE, D. Simple and rapid determination of serotonin and catecholamines in biological tissue using high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. **J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci**. v.818, p.269-276, 2005.

PAXINOS, G.; KUS, L.; ASHWEL, K. W. S.; WATSON, C. Chemoarchitectonic atlas of the rat forebrain. 1. ed. USA: **Academic Press**, 1999.

PEREIRA, G.B.; PRESTES, J; LEITE, R.D.; MAGOSSO,R.F; PEIXOTO,F.S.; MARQUETI,R.C.; SHIGUEMOTO,G.E.; ARAÚJO, H.S.S.; BALDISSERA,V.; PEREZ, S.E.A. The Effect of Ovariectomy and Resistance Training on MMP-2 Activity in Rat Calcaneal Tendon. **Connective Tissue Research**, 2010.

POMPEIANO M, PALACIOS JM, MENGOD G. Distribution of the serotonin 5-HT2receptor family mRNAs: comparison between 5-HT2A and 5-HT2C receptors. **Mol Brain Res** , 78, 23:163, 1994.

PRESTES, J., G. SHIGUEMOTO, et al. Effects of resistance training on resistin, leptin, cytokines, and muscle force in elderly post-menopausal women. **J Sports Sci**: 1-9, 2009

PRESTES, J., R. DE CASSIA MARQUETI, et al.Effects of ovariectomy and resistance training on MMP-2 activity in skeletal muscle. **Appl Physiol Nutr Metab** 34(4): 700-6, 2009.

PRUT, L.; BELZUNG, C. The Open Field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. **European Journal of Pharmacology**, 463, 3-33, 2003.

QUINLAN, G.M; HUSSAIN, D.; BRAKE, G.W. Use of cognitive strategies in rats: The role of estradiol and its interaction with dopamine. **Hormones and Behavior**, 53, 185-191, 2008.

REDBERG, R. F., M. NISHINO, D. B. MCELHINNEY, M. W. DAE, and E. H. BOTVINICK. Long-term estrogen replacement therapy is associated with improved exercise capacity in postmenopausal women without known coronary artery disease. **Am. Heart J**, 139:739–744, 2000.

ROTH, R.H., ELSWORTH, J.D. Biochemical pharmacology of midbrain dopaminergic neurons. In: BLOOM, F.E.; KUPFER, D.; J., editors. **Psychopharmacology: The fourth generation of progress**. New York: Raven Press, 227-243, 1995.

SÁNCHEZ, G.B.; BOURQUE, M; MORISSETTE, M.; Di PAOLO, T. Steroids-Dopamine interactions in the pathophysiology and treatment of CNS disorders. **Neuroscience & Therapeutics**, 16, e43-e71, 2010.

SAUNDERS-PULLMAN, R.; GORDON-ELLIOTT, J.; PARIDES, M.; FAHN, S.; SAUNDERS, H.R.; BRESSMAN, S. The effect of estrogen replacement on early Parkinson's disease. **Neurology**, 52, 1417-1421, 1999.

SHIGUEMOTO, G. E., E. A. ROSSI, et al. Isoflavone-supplemented soy yoghurt associated with resistive physical exercise increase bone mineral density of ovariectomized rats. **Maturitas** 57(3): 261-70, 2007

SIPILA S, TAAFFE DR, CHENG S, PUOLAKKA J, TOIVANEN J, SUOMINEN H. Effects of hormone replacement therapy and high-impact physical exercise on skeletal muscle in post-menopausal women: a randomized placebo-controlled study. **Clin Sci**; v. 101: p.147-157, 2001.

SORENSEN MB, ROSENFALCK AM, HOJGAARD L, OTTESEN B. Obesity and sarcopenia after menopause are reversed by sex hormone replacement therapy. **Obes Res**; v. 9: 622–626, 2001

SUBBIAH, M. T. Mechanisms of cardioprotection by estrogens. **Proc Soc Exp Biol Med** 217(1): 23-9, 1998.

TAYLOR, M. Alternatives to conventional hormone replacement therapy. **Compr Ther**, 23(8): 514-32, 1997.

TE VELDE ER, PEARSON PETER L. The variability of female reproductive ageing. **Hum Reprod Update**, 8:141–154, 2002.

VAN DER KOOY, D.; ATTORI, T. Dorsal raphe cells with collateral projections to the caudate-putamen and substantia nigra: A fluorescent retrograde Double labeling study in the rat. **Brain Res**, 186, 1-, 1980.

VEGETO, E.; BENEDUSI, V.; MAGGI, A.; Estrogen anti-inflammatory activity in brain: A therapeutic opportunity for menopause and neurodegenerative disease. **Frontiers in Neuroendocrinology**, 04-001, 2008.

VELISKOVA, J. Estrogens and epilepsy: Why are we so excited? **Neuroscientist**, 13:77-88, 2007

WALF, A.A; FRYE, A.C. The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. **Nature Protocols**, v. 2, n. 2, 2007.

WALSH, R.N., CUMMINS, R.A., The open Field test: a critical review. **Psychol. Bull.**, 83, 481-504, 1976