



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS APLICADAS



GRACIANA DE AZAMBUJA

Hipoalgesia muscular induzida por exercício físico crônico
é dependente de receptores PPAR γ

Limeira

2017

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

FACULDADE DE CIÊNCIAS APLICADAS

GRACIANA DE AZAMBUJA

Dissertação de Mestrado

Hipoalgesia muscular induzida por exercício físico crônico

é dependente de receptores PPAR γ

Dissertação apresentada a Faculdade de Ciências Aplicadas da Universidade Estadual de Campinas Para obtenção do título de Mestra em Ciências da Nutrição e do Esporte e Metabolismo, na área de concentração da Biodinâmica do Movimento Humano e Esporte

Orientadora: Professora Dr^a. Maria Cláudia Gonçalves de Oliveira Fusaro (FCA/UNICAMP)

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO DEFENDIDA PELA ALUNA GRACIANA DE AZAMBUJA E ORIENTADA PELA PROF. DR^a MARIA CLÁUDIA GONÇALVES DE OLIVEIRA FUSARO

LIMEIRA

2017

Agência(s) de fomento e nº(s) de processo(s): FAPESP, 2015/20738-0; FAPESP, 2016/14308-5

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Ciências Aplicadas
Sueli Ferreira Júlio de Oliveira - CRB 8/2380

Az13h Azambuja, Graciana de, 1993-
Hipoalgesia induzida por exercício físico crônico é dependente de receptores PPAR γ / Graciana de Azambuja. – Limeira, SP : [s.n.], 2017.

Orientador: Maria Cláudia Gonçalves de Oliveira Fusaro.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Aplicadas.

1. Treinamento físico. 2. Dor musculoesquelética. 3. Eletrofisiologia. 4. Neurônios. I. Oliveira, Maria Cláudia Gonçalves de. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Aplicadas. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Hypoalgesia induced by physical exercise is dependent of PPAR γ receptors

Palavras-chave em inglês:

Physical training

Muscle pain

Electrophysiology

Neurons

Área de concentração: Biodinâmica do Movimento Humano e Esporte

Titulação: Mestra em Ciências da Nutrição e do Esporte e Metabolismo

Banca examinadora:

Maria Cláudia Gonçalves de Oliveira

Cesar Renato Sartori

Igor Luchini Baptista

Data de defesa: 30-08-2017

Programa de Pós-Graduação: Ciências da Nutrição e do Esporte e Metabolismo

Autor(a): Graciana De Azambuja

Título: Hipoalgesia muscular induzida por exercício físico crônico é dependente de receptores PPAR γ

Natureza: Mestrado

Instituição: Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Aplicadas (UNICAMP/FCA)

Data da defesa: Limeira, 30 de Agosto de 2017

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr (a). Maria Cláudia Gonçalves de Oliveira Fusaro (orientadora)

Prof. Dr. César Renato Sartori

Prof. Dr. Igor Luchini Baptista

A ata de defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se no processo de vida acadêmica do aluno.

Für meine liebe Familie

Agradecimentos

“Foi o tempo que dedicaste a tua rosa que a fez tão importante...”

(O Pequeno Príncipe, de Antoine de Saint Exupéry)

Penso que, quando nos colocamos desafios, devemos esperar as dificuldades e superar os obstáculos. Desenvolver esse trabalho exigiu muito estudo, muita disposição, muitas horas de laboratório no dia e muita ajuda. Hoje ele está finalizado e a lista para agradecimentos é grande:

- Primeiramente, agradeço a Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela bolsa concedida no Brasil e no exterior, além do financiamento de ambos os projetos.
- À minha orientadora eu só devo agradecimentos, por ser uma chefe de laboratório excepcional. Ela que não mediu esforços para desenvolver esse projeto, caiu de cabeça nas minhas ideias e impulsionou a evolução desse estudo com uma dedicação impressionante. Por todas as oportunidades dadas, eu não tenho palavras para dizer o quanto foram essenciais para crescer da forma que estou hoje. Dizem que o estudante que tem um bom espelho tem mais chances de obter sucesso e tenho certeza que todos do LABEDI alcançarão (e já estão) objetivos grandes na vida.
- Aos membros do Laboratório de Fisiologia Aplicada ao Exercício (LAFAE – FCA/UNICAMP), pela ajuda nos testes físicos (Pedro, Ivan e Wladimir). Especialmente à Professora Fúlvia de Barros Manchado Gobatto e ao Leonardo Henrique Messias, pela contribuição indispensável na montagem dos protocolos de treinamento crônico e análise de dados.
- Ao Professor Igor Luchini Baptista, por ensinar e colaborar nas análises de amostras.
- À banca avaliadora desse trabalho, pelo tempo dedicado à leitura e correções feitas.
- Aos amigos do Brasil, os “labeledianos” Bruna, Diogo, Carol, Beatriz e Natália, que dentro e fora do laboratório foram parceiros de conversas, risadas, choros,

comidas e bebidas. “Juntos matamos um leão por dia”. Com eles a vida se torna mais leve, com mais prazer e trabalhar é uma felicidade. A eles e à bolsista Maysa, muito obrigada pela ajuda no desenvolvimento do projeto.

- Em especial, agradeço à Beatriz, aluna de graduação tão interessada e dedicada ao projeto, quanto eu. Não conseguiria fazer os experimentos sem ela e tenho certeza que crescemos juntas nesses últimos anos.

- Aos orientadores da Alemanha, Professor Treede e ao Ulrich Hoheisel, obrigada por abrir as portas do Departamento de Neurofisiologia, por desenvolver o projeto proposto e pelo conhecimento passado. E, à técnica de laboratório Ulrike, pela ajuda com os experimentos.

-Aos amigos da Alemanha, Paulina, Prama, Handan, Daniela e Kristina. Que além de me ajudar no dia a dia, me apresentaram lindas culturas, lindos lugares e uma linda amizade que espero ter para sempre. Fizeram da minha experiência no país, algo mais completo.

De maneira geral agradeço também a todos envolvidos indiretamente com o trabalho: bioteristas, meninas do grupo de limpeza e aos vigias do bloco de laboratórios da FCA/UNICAMP. São pessoas importantes que ajudam a manter o ambiente de trabalho organizado e “funcionante”. E, aos animais utilizados, que além de materiais de pesquisa e conhecimento, são pequenas vidas que buscamos tratar com o máximo de respeito.

Por fim (mas não menos importante), agradeço aos meus pais, Bernadete e Leonardo, minha irmã, Manuela, meu irmão, Francisco e minha cunhada Camila, por todo o suporte e amor que me dão a cada passo. Um eixo de estabilidade e uma flecha de bússola, quando preciso. Um poço de compreensão por não me ter em casa nos feriados. Um mundo de alegria quando “mateamos” juntos.

Ainda, deixo um beijo grande para minha avó Gerda, que lembrei a todo o momento enquanto estava na Alemanha.

RESUMO

A prática regular de exercícios tem sido descrita como uma boa alternativa para a prevenção e redução da dor, e a ausência de efeitos colaterais comuns aos medicamentos analgésicos comercialmente disponíveis é um ponto positivo. Entretanto, intensidade e volume do exercício para a geração da hipoalgesia, bem como seus mecanismos, ainda são pouco aprofundados. Portanto, considera-se importante desenvolver estudos com exercício físico adequado às condições individuais que investiguem a prevenção e redução da dor muscular, bem como seus mecanismos neurobiológicos envolvidos na hipoalgesia induzida pelo exercício. Sabe-se que durante um processo doloroso, o exercício físico pode atuar no organismo através de diversas vias. Tem sido foco de estudos a investigação de mecanismos envolvidos na transição de condições de dor aguda para crônica, a fim de melhorar abordagens de prevenção. Além disso, a ativação do receptor PPAR γ (Receptores Ativados por Proliferadores de Peroxissoma Gama) tem surgido como um potencial anti-inflamatório e redutor da dor, podendo ser uma importante via da hipoalgesia induzida por exercício. Dessa forma, o objetivo desse estudo foi verificar dois protocolos de treinamento aeróbico crônico com diferentes intensidades e suas capacidades de induzir hipoalgesia induzida pelo exercício e, nesse caso, comparar suas eficiências. Além disso, avaliamos se a hipoalgesia induzida pelo exercício físico crônico é modulada pela ativação dos receptores PPAR γ no tecido muscular, e também, avaliar se o exercício físico agudo é capaz de modular a sensibilização de neurônios centrais, prevenindo o desenvolvimento de um estado de hiperalgesia latente.

ABSTRACT

Regular exercise has been described as a good alternative for the prevention and reduction of pain, and the absence of side effects, common to available analgesics medicines is a positive point. However, exercise intensity and volume for the generation of hypoalgesia, as well as its mechanisms, are still poorly understood. Therefore, it is considered important to develop studies with protocols of physical exercise appropriate to the individual conditions that investigate the prevention and reduction of muscle pain, as well as its neurobiological mechanisms involved in exercise-induced hypoalgesia. It is known that during a painful process, the physical exercise can act in the organism through several ways. It has been the focus of studies the investigation of mechanisms involved in the transition from acute to chronic pain conditions. Besides that, activation of the PPAR γ (Peroxisome Proliferator Activated Receptors Gamma) has emerged as a potential anti-inflammatory and pain reducer by drugs, and may be an important pathway of exercise-induced hypoalgesia. Thus, the objective of this study was to evaluate if the acute physical exercise were able to modulate the sensitization of central neurons, preventing the development of a state of latent hyperalgesia. Also, verify the ability of two chronic aerobic training protocols with different intensities, to induce exercise-induced hypoalgesia and, in this case, to compare its efficiencies and we evaluated whether the hypoalgesia induced by chronic physical exercise is modulated by the activation of PPAR γ receptors in muscle tissue.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Cronologia do tratamento com exercício (página 39)

Figura 2 – Organização experimental do registro de neurônios do corno dorsal (página 42)

Figura 3 – Intensidade da Máxima Fase Estável de Lactato ao longo do treinamento (página 46)

Figura 4 – Mudanças no limiar nociceptivo ao longo do período de treino (página 47)

Figura 5 – Hipoalgesia induzida por exercício generalizado e individualizado (página 48)

Figura 6 – Envolvimento dos receptores PPAR γ na hipoalgesia induzida por treinamento generalizado e individualizado (página 49)

Figura 7 - Modulação das citocinas pró-inflamatórias pelos receptores PPAR- γ na hipoalgesia induzida pelo exercício (Página 51)

Figura 8 – Dados normalizados da variação da PPT induzida pela primeira injeção de NGF na região lombar indicando hiperalgesia de curta duração (página 53)

Figura 9 – Atividade espontânea dos neurônios do corno da raiz dorsal (página 55)

Figura 10 – Neurônio do corno dorsal com fontes de entrada provindos de diferentes tipos de tecidos (neurônio convergente) (página 56 e 57)

Figura 11 – Neurônio excitado de tecidos somáticos profundos (página 58)

Figura 12 – Proporção dos neurônios registrados no corno dorsal de acordo com as fontes de entrada (página 59)

Figura 13 – Neurônios com campos receptivos profundos localizados fora da região lombar (página 60)

LISTA DE ABREVIATURAS

5-HT – serotonina

ATP – adenosina trifosfato

BK – bradicinina

CB – receptor canabinóide

CGRP – peptídeo relacionado ao gene calcitonina

GRD – gânglio da raiz dorsal

g – gramas

H⁺ - hidrogênio

HIE – hipoalgesia induzida pelo exercício

Imp/min – impulsos por minuto

i.p – intraperitoneal

i.v – intravenosa

IASP – Associação Internacional de Estudos da Dor

IL-10 – interleucina 10

IL-1 β – interleucina 1 beta

IL-6 – interleucina 6

L1/L2/L3/L5 – vértebra lombar

MAPK – MAP quinase

MFEL – Máxima Fase Estável de Lactato

iMFEL – intensidade da Máxima Fase Estável de Lactato

Kg – quilogramas

LPB – *low back pain* (dor lombar)

mRNA – ácido ribonucleico mensageiro

Na⁺ - sódio

NaCl – cloreto de sódio

NFκB – fator nuclear kappa B

NGF – fator de crescimento neuronal

NO – óxido nítrico

P2X – receptor purinérgico

PBS - *phosphate buffered saline*

PGE₂ – prostaglandina do tipo E₂

PGJ₂ – prostaglandina do tipo J₂

PK – proteína quinase

PLC – fosfolipase C

PPAR – receptor ativado por proliferador de peroxissoma

PPRE – elemento responsivo de PPAR

PPT – *pressure pain threshold* (limiar de dor por pressão)

RXR – receptor retinóico X

SNC – sistema nervoso central

TLR – receptor tipo *Toll*

TrkA – receptor tropomiosina quinase A

TRPV - receptor de potencial transitório vanilóide

TLF – fáscia toracolumbar

TNF-α – fator de transcrição tumoral alfa

LISTA DE SÍMBOLOS

α – Alfa

β – Beta

κ – Kappa

Δ – Delta

γ – Gama

μ - Micro

$>$ - Maior

$<$ - Menor

® - Marca registrada

$\pm$ - Mais ou menos

°C – Graus célsius

L – Litro

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	17
1.1 Dor e dor muscular: conceito e epidemiologia	17
1.2 Fisiologia da dor	18
<i>1.2.1 Do sistema nervoso periférico ao sistema nervoso central</i>	18
1.3 Modelos animais de dor muscular	20
<i>1.3.1 Modelo de dor muscular inflamatória: injeção de carragenina intramuscular</i>	20
<i>1.3.2 Modelo de dor muscular lombar não específica induzida por injeção de fator de crescimento neuronal (NGF)</i>	21
1.4 Exercício físico como prevenção e tratamento de condições dolorosas	22
<i>1.4.1 A Hipotalgesia Induzida pelo Exercício Físico</i>	22
<i>1.4.2 Mecanismos da Hipotalgesia Induzida pelo Exercício Físico</i>	24
<i>1.4.3 O receptor PPAR gama como um possível mecanismo da Hipotalgesia Induzida por Exercício físico</i>	26
<i>1.4.4 Efeito do exercício físico no processo de cronificação da dor</i>	26
2. SOBRE O ESTUDO E SUAS ETAPAS	28
3. PROJETO EXECUTADO NO BRASIL	28
3.1 Objetivos	28
3.2 Materiais e métodos	29
<i>3.2.1 Delineamento experimental</i>	29
<i>3.2.2 Animais</i>	30
<i>3.2.3 Procedimentos Gerais</i>	31
<i>3.2.4 Protocolo de adaptação ao meio líquido</i>	31
<i>3.2.5 Protocolo de avaliação da Máxima Fase Estável de Lactato</i>	32
<i>3.2.6 Análise da concentração sanguínea de lactato</i>	32
<i>3.2.7 Protocolos de exercício físico aeróbico</i>	33
<i>3.2.8 Treinamento físico com intensidades individualizadas</i>	33
<i>3.2.9 Treinamento físico com intensidades não individualizadas</i>	34
<i>3.2.10 Administração intramuscular de drogas</i>	34
<i>3.2.11 Quantificação da hiperalgesia muscular mecânica</i>	35

3.1.12 Quantificação de citocinas pelo teste de ELISA	36
3.2.13 Análise de dados	36
4. PROJETO EXECUTADO NA ALEMANHA	36
4.1 Objetivos	37
4.2 Materiais e métodos	37
4.2.1 Animais	37
4.2.2 Procedimentos gerais	37
4.2.3 Modelo de dor muscular lombar não específica	38
4.2.4 Teste de limiar de dor por pressão (PPT)	38
4.2.5 Adaptação ao meio líquido	38
4.2.6 Protocolo de tratamento com exercício físico	39
4.2.7 Procedimentos cirúrgicos gerais	40
4.2.8 Registro dos neurônios do corno da raiz dorsal	40
4.2.9 Classificação dos campos receptivos dos neurônios do corno dorsal	43
4.2.10 Análise de dados	43
5. RESULTADOS OBTIDOS NO BRASIL	45
5.1 Parâmetros gerais de treinamento generalizado e individualizado	45
5.2 Hipoalgesia muscular é induzida pelo treinamento individualizado e generalizado	46
5.3 Receptores PPARγ estão envolvidos na hipoalgesia induzida pelo treinamento generalizado e individualizado	49
5.1 Receptores PPARγ estão envolvidos na hipoalgesia induzida pelo exercício via modulação de CINC-1	50
6. RESULTADOS OBTIDOS NA ALEMANHA	51
6.1 Exercício físico não preveniu a hiperalgesia mecânica de curta duração induzida por NGF	52
6.2 Parâmetros gerais do registro de neurônios no corno dorsal da medula	53
6.3 Fontes de entrada dos neurônios registrados no corno dorsal	56
7. DISCUSSÃO	62
7.1 Hipoalgesia induzida pelo exercício físico crônico em um	62

modelo de hiperalgesia muscular inflamatória é mediado por receptores PPARγ	
<i>7.1.2 Os efeitos do exercício físico crônico: a importância da prática regular para o controle da dor muscular</i>	62
<i>7.1.3 Hipoalgesia induzida pelo exercício físico crônico é dependente de receptores PPARγ</i>	65
7.2 Exercício físico de curta duração diminui sensibilidade neuronal no processo de cronificação da dor em um modelo de dor muscular lombar	66
<i>7.2.1 Hiperalgesia mecânica de curta duração induzida por injeções de NGF não é prevenida pelo exercício físico</i>	66
<i>7.2.2 Redução da sensibilidade de neurônios do corno dorsal e reorganização dos campos receptivos induzidos pelo exercício</i>	67
<i>7.2.3 Atividade espontânea dos neurônios sensibilizados foi diminuída após o exercício físico de curta duração</i>	69
8. CONCLUSÃO	71
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	72
10. ANEXOS	96

1. INTRODUÇÃO

1.1 Dor e dor muscular: conceito e epidemiologia

O conceito de dor foi definido pela Associação Internacional para Estudos da Dor (IASP) em 1979, como “experiência sensorial e emocional desagradável associada a dano tecidual real ou potencial, ou descrita em termos de tal dano” e é utilizada até os dias de hoje. Portanto, dor nem sempre é consequência de lesões, podendo inclusive ocorrer sem elas. Fatores biológicos não devem ser separados dos fatores psicológicos (aprendizado, memória, emoções, entre outros), pois se trata de uma experiência multidimensional e subjetiva (AMANDUSSON; BLOMQVIST, 2013; RILEY et al., 2014).

Mesmo com o enorme avanço da ciência na área da saúde, as dores crônicas ainda representam um importante problema de saúde mundial (GREGORY et al., 2013). Estima-se que um em cada cinco adultos apresentem condições dolorosas e a cada ano, um em cada 10 adultos é diagnosticado com dor crônica (BREIVIK et al., 2006; DUREJA et al., 2014). Uma pesquisa realizada nos EUA demonstrou que mais de 100 milhões de americanos sofrem com dores musculares, sendo essa quantidade maior que a soma das pessoas com diabetes, câncer e as doenças cardíacas (STEGLITZ et al., 2012). No Brasil, demonstrou-se em 2015, que 28% da população relatou algum tipo de dor musculoesquelética, sendo que 63% dos casos a dor é sentida há três meses ou mais, podendo então ser caracterizada como crônica (IBOPE, 2015).

De todas as dores que acometem o ser humano ao longo da sua existência, as dores musculares são uma das mais prevalentes (ANDERSEN et al., 2007; MURRAY et al., 2013). Atingem mais de 40% da população mundial, são responsáveis por 29% das faltas ao trabalho e, muitas vezes, dificultam a movimentação funcional para as atividades diárias, diminuindo a qualidade de vida e podendo levar ao sedentarismo, com o desenvolvimento de outras doenças associadas (MINSON, 2009; CIMMINO et al., 2011). Além disso, estudo recente demonstrou que há uma forte correlação ambiental e genética predispondo condições de dor muscular generalizada (OGATA et al., 2017).

Entre os principais fatores de risco para o desenvolvimento de dores musculares crônicas estão: a exposição elevada de movimentos com alta carga, movimentação repetida ou monótona (mesmo sem carga) (LARSSON et al., 2007) e a sustentação estática de uma determinada carga por tempo elevado (ANDERSEN et al., 2007; SANTOS et al., 2017). Além de fatores psicossociais, como estresse (HOEGER BEMENT et al., 2010; HOHEISEL; VOGT; et al., 2015), fatores hereditários (MOUKADDEM et al., 2015) além de atividades físicas executadas de forma errônea, ou inatividade (HENEWEER et al., 2009; SØGAARD; SJØGAARD, 2017).

Dessa forma, considera-se fundamental o desenvolvimento de estudos sobre as vias de sinalização da dor bem como os mecanismos de tratamentos, em modelos animais, a fim de melhorar as abordagens terapêuticas, que envolvam também a manutenção da qualidade de vida.

1.2 Fisiologia da dor

1.2.1 Do sistema nervoso periférico ao sistema nervoso central

A experiência dolorosa é fundamental para a sobrevivência e faz parte do desenvolvimento de tecidos periféricos e sistema nervoso central do ser humano. Normalmente, a intensidade do estímulo necessária para ativar a percepção da dor é de caráter nocivo, mas abaixo da necessária para causar dano tecidual, sendo esse processo um importante sistema de alerta e proteção do corpo (MENSE; GERWIN, 2010, p. 8).

Há diferentes estruturas envolvidas no processamento do estímulo doloroso, como nociceptores (terminações nervosas livres dos axônios de neurônios primários), fibras de condução especializada no nervo periférico, áreas cerebrais envolvidas na produção da percepção da dor (MENSE; GERWIN, 2010, p. 25). Há também particularidades relacionadas, como a liberação de substâncias endógenas sensibilizadoras e citocinas pró-inflamatórias (LORAM et al., 2007), e, em alguns casos, a formação de campos receptivos (área do corpo que quando estimulada, produz sinal no neurônio

sensorial) distante do local de estímulo (MENSE, 1993; HOHEISEL et al., 2005, 2013).

Em condições normais, o processo doloroso muscular se inicia a partir de um estímulo de alta intensidade além do limiar de repouso, podendo ser de caráter mecânico, térmico ou químico. Receptores especializados chamados nociceptores, estão localizados na região do estímulo, em terminações nervosas livres e são ativados pelos estímulos periféricos, também chamados de *input* (fontes de entrada) para o início da transdução. Com o estímulo, canais de cátions são abertos, despolarizando a membrana além do seu limiar de repouso, gerando os potenciais de ação. A dor aguda é conduzida por essas terminações, mais especificamente por fibras do tipo A delta ($A\delta$): altamente mielinizadas, captam estímulos primários e possuem alta velocidade de sinalização (2,5-30 m/s). E a dor latente, que dura por mais tempo, por fibras do tipo C: pouco mielinizadas, responsáveis por propagação latente do sinal doloroso, em menor velocidade ($<2,5$ m/s) (MENSE; GERWIN, 2010). As informações da periferia chegam ao gânglio da raiz dorsal (GRD) e adentram na via espinotalâmica, estabelecendo sinapse com os neurônios de segunda ordem localizados nas lâminas I, II, III, IV, V e VI do corno dorsal da medula espinhal (ZHANG et al., 2016). A recepção, condução e processamento dos sinais nociceptivos é denominada nocicepção (JULIUS; BASBAUM, 2001). Neurônios localizados em regiões sub-corticais do tronco encefálico, como o bulbo e substância cinzenta periaquedutal (PAG), processam as informações do sinal doloroso e geram uma resposta modulatória (PORRECA et al., 2002). O córtex cerebral recebe a informação nociceptiva nas regiões somatossensoriais, onde componentes subjetivos irão influenciar a interpretação ao estímulo (componente sensório-discriminativo; afetivo-emocional; componente vegetativo; motor e cognitivo; MENSE; GERWIN, 2010, p. 107; VERRIOTIS et al., 2016).

Em algumas situações dolorosas, substâncias como fator de necrose tumoral - alfa ($TNF-\alpha$), interleucina 1 - beta ($IL-1\beta$), interleucina 6 ($IL-6$) e quimioatraente-1 de neutrófilos indutor de citocina (CINC-1; homólogo de ratos para $IL-8$), são geradas a partir de estímulos inflamatórios em diversos tecidos periféricos (OLIVEIRA et al., 2009; TEIXEIRA et al., 2010;

SCHIAVUZZO et al., 2015) e podem atuar na indução e/ou potencialização do sinal nervoso. O mesmo ocorre no tecido muscular (LORAM et al., 2007; DINA et al., 2008; CUNHA et al., 2008). Nesse processo, há dois tipos de receptores presentes na periferia, os ionotrópicos: canais proteicos que permanecem fechados em estado de repouso, porém quando ativados por moléculas específicas, se abrem gerando uma corrente de sódio, potássio, cloreto, de acordo com a diferença de concentração extra e intracelular, e de propriedades dos canais iônicos. E os receptores metabotrópicos: onde a ligação de uma substância específica na membrana do tecido ativa a cascata da proteína G, responsável por regular o metabolismo intracelular, alterando proteínas mensageiras como a fosfolipase C (PLC), adenosina monofosfato cíclico (AMPC) e proteínas quinases (PKs) (WALDER et al., 2010). A consequência disso é a fosforilação de canais iônicos, abrindo-os ou mantendo-os abertos, fazendo com que o fluxo de íons se eleve (MENSE; GERWIN, 2010, p. 28-31). Dessa forma, esses fatores podem influenciar o grau de atividade nervosa gerando uma mudança no comportamento das sinapses dos neurônios, e, por conseguinte, alterando a intensidade necessária para ativar as vias de sinalização de dor, resultando na redução dos limiares de dor. Esse processo pode ser de origem inflamatória ou não, e é denominado hiperalgesia: “resposta aumentada a um estímulo que é normalmente doloroso” (IASP, 2011).

Por fim, se houver falhas no tratamento de dores agudas, a constante ativação dos nociceptores e da via de dor, por estímulos mecânicos, químicos ou térmicos, pode eventualmente levar a uma condição crônica (PARADA et al., 2005; REICHLING; LEVINE, 2009). Nesses indivíduos, a dor perde sua função protetora e se torna uma doença por si só.

1.3 Modelos animais de dor muscular

1.3.1 Modelo de dor muscular inflamatória: injeção de carragenina intramuscular

Modelos experimentais de dor muscular, que utilizam estímulos inflamatórios nocivos, têm sido usados para mimetizar situações inflamatórias

relacionadas às condições dolorosas associadas às lesões teciduais (HONORE et al., 2006; PELEGRINI-DA-SILVA et al., 2008; CHOPADE et al., 2014). A administração de carragenina intramuscular é um dos mais estabelecidos (CUNHA et al., 1995; LORAM et al., 2007; CHOPADE et al., 2014). Nesse caso, substâncias químicas são induzidas, como bradicinina (BK), prostaglandinas do tipo E₂ (PGE₂), ciclooxigenase – 2 (COX-2), interleucina - 1 beta (IL-1 β), interleucina - 6 (IL-6) entre outras citocinas inflamatórias clássicas (LORAM et al., 2007; DINA et al., 2008; CUNHA et al., 2008; CHOPADE et al., 2014). Esse ambiente inflamado pode ser responsável pela ativação ou sensibilização de nociceptores na fibra aferente, gerando outras substâncias como: serotonina (5-HT), fatores de crescimento neuronal (NGF), glutamato, substância P e peptídeo relacionado ao gene calcitonina (CGRP) (MENSE, 2009; SLUKA; RASMUSSEN, 2010; GREGORY et al., 2015; HOHEISEL; MENSE, 2015).

1.3.2 Modelo de dor muscular lombar não específica induzida por injeções de fator de crescimento neuronal (NGF)

A dor muscular lombar (LBP, *low back pain*) é uma das condições dolorosas crônicas mais comuns em humanos (BALAGUÉ et al., 2012). Repetidas injeções de NGF têm sido usadas para mimetizar situações de sobrecarga nos músculos da região lombar, que normalmente não são de caráter doloroso, mas de forma repetida ou com recuperação inadequada, em longo prazo, podem gerar dores crônicas (HOHEISEL et al., 2007, 2013; HOHEISEL; MENSE, 2015).

O NGF é um fator neurotrófico endógeno, produzido em situações normais para desenvolvimento, maturação e função de neurônios do sistema nervoso (PEZET; MCMAHON, 2006) e possui grande afinidade ao receptor quinase relacionado à tropomiosina tipo A (TrkA) (MENSE; GERWIN, 2010). A ligação com o seu receptor desencadeia uma sinalização intracelular que acaba por ativar a via da MAP Quinase (*Mitogen Activated Protein Kinase*, MAPK), promovendo a sobrevivência celular (PEZET; MCMAHON, 2006). Porém, a via do NGF tem sido relacionada com o processo de dor crônica. O

p75 é um receptor de baixa afinidade, da família dos fatores de necrose tumoral (TNFs) e a ligação do NGF nesse receptor em neurônios sensoriais leva à sensibilização e pode ativar a via da apoptose (JNK/NFκB) (PEZET; MCMAHON, 2006; HOHEISEL et al., 2007; MENSE, 2009). Dessa forma, estabeleceu-se que injeções de NGF no músculo multifidus (MF) de ratos excitam nociceptores musculares (MENSE, 2009) e provocam potenciais sublimiares em neurônios do corno dorsal acompanhado de hiperalgesia muscular (HOHEISEL et al., 2005, 2007, 2013; WEINKAUF et al., 2015).

Esse modelo investiga o processo de cronificação da dor muscular em tecidos lombares, a nível neuronal. Sabe-se que, a primeira administração intramuscular de NGF causa uma sensibilização de curta duração, seguida de um estado de sensibilidade neuronal de repouso, ou seja, não há sinais elétricos ou hiperalgesia, mas não está em um estado *naïve*. Com isso, a segunda injeção de NGF resulta na manifestação mais forte e duradoura da sensibilização dos neurônios, denominada hiperalgesia de longa duração, que permanece ativa por até 8 dias (HOHEISEL et al., 2013). Além disso, é característica desse modelo a geração de campos receptivos convergentes (com entradas de estímulo em pelo menos dois tipos de tecidos) e em tecidos somáticos profundos (músculo e fáscia), a ativação de sinapses silenciosas formam campos receptivos localizados distantes do local da injeção (HAYASHI et al., 2013; HOHEISEL; ROSNER; et al., 2015). Dessa forma, estímulos nocivos repetitivos, sem recuperação adequada, geram uma hipersensibilização da via de nocicepção (REICHLING; LEVINE, 2009; HENDRICH et al., 2013). Neurônios musculares que antes respondiam apenas a estímulos de alta intensidade (exemplo: pressão nociva), se tornam hiperexcitados e podem ser ativados por estímulos inócuos (exemplo: tato). Esse é um processo da sensibilização neuronal e é uma das etapas mais importantes envolvidas na transição da dor aguda para a crônica.

1.4 Exercício físico como prevenção e tratamento de condições dolorosas

1.4.1 A Hipoalgesia Induzida pelo Exercício Físico

A falta de conhecimento sobre o processo da dor e a pobreza no diagnóstico faz com que o tratamento seja superficial e a prevenção menosprezada (KOPF, 2010). Dessa forma, o tratamento de maior escolha e indicação para dores musculares, tanto pela rapidez quanto pela facilidade de acesso, são os medicamentos analgésicos e anti-inflamatórios (ZELLER, 2008). Entretanto, esses mesmos medicamentos podem causar efeitos adversos graves quando usados continuamente e sem acompanhamento profissional. Inclui-se nos efeitos adversos: sangramentos gastrointestinais e dispepsias, déficits funcionais no sistema cardiovascular e renal, além de hepatotoxicidade e lesões severas no fígado (BOELSTERLI, 2003). Além disso, uma parcela da população é refratária aos medicamentos analgésicos.

Há alguns anos, o exercício físico vem sendo incentivado em pacientes com diversas condições patológicas, tendo sido apresentado como uma ferramenta benéfica para a manutenção da saúde geral (GARBER et al., 2011). Diferentes protocolos de exercício físico vêm sendo utilizados como alternativas terapêuticas, devido a sua capacidade de modular vias metabólicas endógenas, atuando como agente principal ou auxiliar na prevenção e promoção da saúde em indivíduos com doenças graves, como obesidade e diabetes (SILVA, DA et al., 2010), câncer (DEMARZO et al., 2008), doenças cardiovasculares (GOKCE et al., 2002) e cognitivas (FRAZZITTA et al., 2013). Nesse sentido, protocolos de exercício físico também têm sido descritos como uma método tão eficiente quanto os medicamentos analgésicos, para o controle das dores crônicas, com a vantagem de não apresentar os efeitos adversos relacionados aos medicamentos (EDWARDS; ARONSON, 2000). De modo geral, estudos tanto em animais experimentais (BEMENT; SLUKA, 2005; SHEN et al., 2013; GALDINO et al., 2014) quanto em humanos (NAUGLE et al., 2013; TESARZ et al., 2013; JONES et al., 2014; VAEGTER et al., 2016) têm demonstrado resultados positivos na prevenção e tratamento das dores musculares com abordagens baseadas no exercício físico. Esse fenômeno é denominado Hipoalgesia Induzida por Exercício (HIE): o exercício físico gerando a redução da percepção a estímulos que causam dor, caracterizado pela elevação do limiar de dor (KOLTYN, 2000; NAUGLE; FILLINGIM; RILEY, 2012).

Têm sido demonstrado que diferentes tipos de exercício físico são capazes de induzir hipoalgesia, tanto protocolos baseados em contrações isométricas (MORIMOTO et al., 2013; KOLTYN et al., 2014; NAUGLE et al., 2016), quanto com movimentos dinâmicos (SHARMA et al., 2010; HOOTEN et al., 2012; JONES et al., 2014). De maneira geral, sabe-se que o movimento físico tem efeito sistêmico (KOSEK; LUNDBERG, 2003; KADETOFF; KOSEK, 2007) e que o aumento da quantidade de exercício físico diário é capaz de causar modificações significativas em relação à dor (LANDMARK et al., 2013). Dessa forma, a regularidade da prática tem se apresentado como um fator importante para a hipoalgesia (ANDERSEN et al., 2008; STAGG et al., 2011), além da intensidade e volume mínimo necessário (HOFFMAN et al., 2004; WONDERS; DRURY, 2011).

É importante ressaltar que indivíduos saudáveis respondem ao exercício de maneira diferente daqueles que apresentam dores crônicas, portanto é necessário que a prescrição ocorra também de acordo com o diagnóstico da dor (WHITESIDE et al., 2004; BEMENT et al., 2009; BEMENT; SLUKA, 2016). Por exemplo, pacientes com fibromialgia apresentam aumento da dor generalizada após exercícios físicos extenuantes (NAUGLE et al., 2015). Por outro lado, exercícios físicos de baixa intensidade têm sido utilizados de maneira eficaz, no tratamento de pacientes com condições dolorosas crônicas musculoesqueléticas e em modelos de dor muscular crônica em animais experimentais (BEMENT; SLUKA, 2005; SHARMA et al., 2010).

Nesse sentido, o conhecimento sobre a dor em conjunto com a do exercício físico (incluindo intensidades de treino, volumes ideais e tipo de exercício), pode ajudar na obtenção do objetivo e consequentemente na regularidade e permanência ao programa.

1.4.2 Mecanismos da Hipoalgesia Induzida pelo Exercício físico

Os mecanismos envolvidos na HIE estão sendo extensivamente estudados, entretanto, ainda não foram totalmente esclarecidos. Tem sido amplamente estudado o envolvimento do sistema opióide (KOLTYN, 2000;

STAGG et al., 2011), onde a liberação de β -endorfina na corrente sanguínea e sua ligação com receptores específicos gera hipoalgesia (BEMENT; SLUKA, 2005; SLUKA et al., 2013). Porém, sabe-se que esse não é o único mecanismo possível. Estudos em humanos e animais experimentais já demonstraram que a HIE pode ser modulada pela ativação de receptores canabinóides (HOHMANN; SUPLITA, 2006; GALDINO et al., 2014) e serotoninérgicos do sistema nervoso central (BOBINSKI et al., 2016). Ainda, evidências demonstram que o exercício modula vias inflamatórias nos tecidos periféricos, reduzindo citocinas pró-inflamatórias, TNF- α e da IL-1 β (MATHUR; PEDERSEN, 2008; GLEESON et al., 2011), aumentando de citocinas anti-inflamatórias, como a IL-10 (LEUNG et al., 2016; LIGHT et al., 2012), modulação da polarização de macrófagos tipo M2 (LEUNG et al., 2016) e diminuindo da tradução de mRNA de receptores relacionados processos dolorosos crônicos, como os receptores P2X4 e TRPV1 (LIGHT et al., 2012). Apesar dessas evidências, ainda existem muitas lacunas a serem preenchidas, como a melhor compreensão dos mecanismos periféricos e centrais já conhecidos, a pesquisa por outros possíveis mecanismos, e protocolos de exercícios ideais para cada população, considerando-se idade, gênero, condicionamento físico e condições patológicas associadas.

1.4.3 O receptor PPAR gama como um possível mecanismo da Hipoalgesia Induzida por Exercício físico

Os receptores ativados por proliferador de peroxissoma (PPAR) são fatores de transcrição ativados por ligantes, pertencentes a uma família de receptores nucleares (BERGER; MOLLER, 2002). Possuem três isoformas conhecidas: alfa (PPAR α), delta/beta (PPAR δ/β) e gama (PPAR γ). Os receptores PPAR γ são classicamente conhecidos por suas funções metabólicas, como absorção de glicose e balanço lipídico (LEHRKE; LAZAR, 2005). Além disso, possuem potencial efeito anti-inflamatório no tecido adiposo, muscular e nervoso (CUNARD et al., 2002; HENEKA et al., 2005; PARK et al., 2007; KAPADIA; YI, 2008; SIEBERT et al., 2016; ZHANG, M. et al., 2016; LEE et al., 2017). As evidências apontam para os seguintes mecanismos anti-

inflamatórios: alteração da sinalização do NF κ B (COLLINO et al., 2006), diminuição da produção de TNF- α e IL-1 β (PISANU et al., 2014) e modulação do sistema imune com consequente apoptose de macrófagos do tipo M1 e aumento de macrófagos tipo M2 (BOUHLEL et al., 2007, 2009; CHINETTI-GBAGUIDI et al., 2016). De maneira geral, sabe-se que quando o PPAR γ é ativado por ligantes, ele forma heterodímeros com os receptores retinóides do tipo X (RXRs) presentes no núcleo e liga-se a elementos específicos de resposta ao proliferador de peroxissoma (PPREs) nos genes alvo, regulando a sua transcrição (BERGER; MOLLER, 2002; CIMINI et al., 2005). Seus efeitos também ocorrem por interação com o fator de transcrição NF κ B, induzindo a repressão da produção dos genes alvo, diminuindo citocinas inflamatórias (LIU et al., 2005; CROASDELL et al., 2015; KIM et al., 2017).

Como provável consequência da sua atividade anti-inflamatória, os receptores PPAR γ vêm emergindo como alvos promissores para o tratamento de processos dolorosos. Muitos estudos demonstram que ligantes endógenos ou exógenos dos receptores PPAR γ suprimem diferentes condições dolorosas, incluindo dor inflamatória cutânea, articular e peritoneal (NAPIMOGA, M. H. et al., 2007; NAPIMOGA et al., 2008; CLEMENTE-NAPIMOGA et al., 2012), e dor neuropática (POTTABATHINI et al., 2016; JIA et al., 2016). É interessante ressaltar que o exercício físico pode aumentar a expressão de receptores PPAR γ no músculo esquelético (BUENO JÚNIOR et al., 2012), com o objetivo de favorecer a biogênese mitocondrial necessária pela alta demanda energética do esforço físico (GENG et al., 2010; SASAKI et al., 2014). Portanto, a relação entre hipoalgesia induzida pelo exercício e receptores PPAR γ se mostra bastante provável.

1.4.4 Efeito do exercício físico no processo de cronificação da dor

A nível neuronal pouco se sabe sobre o processo de cronificação da dor e, consequentemente, estudos sobre intervenções que poderiam prevenir a transição de um estado agudo para o crônico são escassos. No modelo de dor muscular lombar induzido por injeções de NGF (HOHEISEL et al., 2013), recentemente demonstrou-se o envolvimento de células da glia na

sensibilização de neurônios do corno dorsal e que seu controle previne e reverte esse processo (ZHANG et al., 2017). Porém, outras intervenções terapêuticas e mecanismos ainda não foram estudados. Tem sido demonstrado que o exercício físico pode diminuir a dor em modelos de neuropatia (SHEN et al., 2013) e que o mecanismo de ação pode ser via sistema opióide endógeno (STAGG et al., 2011), serotoninérgico (BOBINSKI et al., 2011), modulação das células da glia (ALMEIDA et al., 2015) e modulação de neurotrofinas na periferia (DETLOFF et al., 2014). Além disso, o exercício físico, em um modelo de dor muscular não inflamatória, induz inibição da via AMPc-PKA, reduzindo a fosforilação da subunidade NR1 dos receptores NMDA no tronco cerebral, e consequentemente, a sinalização dolorosa e prevenção da cronificação (SLUKA et al., 2013). Portanto, sugere-se que o exercício gera um “estado ótimo” do organismo, preparado para insultos nociceptivos. Entretanto, apesar dessas evidências, não se sabe se o exercício físico é capaz de agir a nível sináptico, em neurônios do corno dorsal envolvidos na nocicepção, de modo a modular a dor muscular.

2. SOBRE O ESTUDO E SUAS ETAPAS

Baseado nas evidências de que a hipoalgesia induzida pelo exercício não é dependente apenas de um mecanismo, essa dissertação apresenta e discute resultados de dois projetos que buscaram investigar duas formas de atuação de protocolos aeróbios de exercício, em dois modelos experimentais de hiperalgesia muscular.

Ambos foram desenvolvidos dentro do programa de Mestrado em Ciências da Nutrição do Esporte e Metabolismo (CNEM/UNICAMP), sendo uma etapa realizada na Faculdade de Ciências Aplicadas da Universidade Estadual de Campinas (FCA/UNICAMP, Limeira – SP, Brasil) e o outro projeto adicional no Centro de Biomedicina e Tecnologia Médica da Universidade de Heidelberg e Universidade de Medicina de Mannheim (CBTM/UMM, Mannheim, Alemanha). Os dois projetos foram financiados pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), dessa forma seus conteúdos são complementares. Porém, para melhor compreensão, a metodologia e os resultados de cada projeto serão apresentados separadamente, na ordem Brasil - Alemanha.

3. PROJETO EXECUTADO NO BRASIL

***Título:** Hipoalgesia induzida pelo exercício: efeito do exercício físico crônico e avaliação do envolvimento dos receptores PPAR γ nesse processo*

3.1 Objetivos

O objetivo desse estudo foi comparar a eficiência hipoalgésica de dois protocolos de exercício físico crônico, de predominância energética aeróbia, com volumes iguais, mas de intensidades diferentes, sendo um deles um protocolo de treinamento com intensidades individualizadas, de acordo com um teste de intensidade, e outro com intensidades generalizadas. Além disso, avaliamos se hipoalgesia induzida pelo exercício é modulada pela ativação dos receptores PPAR γ , no tecido muscular.

3.2 Materiais e métodos

3.2.1 Delineamento experimental

Comparação da eficiência dos protocolos crônicos de treinamento aeróbio de intensidade individualizada e intensidade generalizada em gerar hipoalgesia induzida pelo exercício

Com o objetivo de avaliarmos se o protocolo de treinamento aeróbio individualizado induz hipoalgesia, os animais foram treinados através da natação, de maneira individualizada, conforme resultados do MFEL, durante 10 semanas, caracterizando um protocolo crônico. O limiar nociceptivo foi quantificado antes do início dos treinamentos (individualizado e não individualizado) e a cada duas semanas para que pudéssemos avaliar se houve modificações do limiar ao longo das semanas de treinamento. Após 72 horas do término do último teste de MFEL, administramos carragenina no músculo gastrocnêmio e avaliamos se houve desenvolvimento de hiperalgesia muscular. O outro grupo foi submetido ao mesmo procedimento, entretanto, o treinamento não foi individualizado, os pesos tiveram a mesma porcentagem para todos, variando somente de acordo com a massa corporal dos animais. Após, comparamos os limiares de hiperalgesia entre os dois tipos de treinamento, observando se houve alguma influência de prevenção dos protocolos de treinamento sobre o desenvolvimento da dor muscular. Ao final do procedimento os animais foram eutanasiados com uma overdose de anestésico.

Avaliação do envolvimento dos receptores PPAR γ na hipoalgesia induzida por exercício físico crônico

Uma vez evidenciado a capacidade de ambos os protocolos em induzir hipoalgesia, avaliamos se essa resposta era modulada pela ativação dos receptores PPAR γ no tecido muscular. Para isso, 72 horas após o término do último teste de MFEL, administramos o antagonista de receptor PPAR γ , GW9662, no músculo gastrocnêmio e 20 minutos após, a carragenina no mesmo local. A avaliação do desenvolvimento da hiperalgesia foi realizada no período de 3 horas. Ao final do procedimento, os animais foram eutanasiados

com uma overdose de anestésico, as amostras de músculo foram coletadas e o teste de ELISA executado.

3.2.2 Animais

Para realização deste trabalho, foram utilizados 67 ratos machos, da raça Wistar pesando entre 200 a 250g no início do experimento, provenientes do CEMIB-UNICAMP (nº 3689-1, anexo 1). Os animais foram mantidos em gaiolas plásticas (cinco por gaiola) contendo maravalha, em ambiente com controle de luminosidade (ciclos claro/escuro de 12hs) alimentação e água, *ad libitum*. Todos os procedimentos experimentais foram previamente aprovados pelo comitê de ética em pesquisa animal da Universidade Estadual de Campinas e seguiram as diretrizes propostas pelo comitê para pesquisa e ética da Associação Internacional para Estudo da Dor em animais conscientes (ZIMMERMANN, 1983). Em particular, a duração dos experimentos foi a menor possível e o número de ratos usados foi mantido ao mínimo necessário. Os animais foram divididos nos seguintes grupos (tabela 1):

Tabela 1 – Grupos de análise

		Tratamento		
		Controle	Carragenina	Antagonista + Carragenina
Grupos de análise	Controle	Sem treinamento; injeção intramusculares de salina 0.9% (n=4)	Sem treinamento; injeção intramusculares de carragenina (n=4)	Sem treinamento; injeção intramusculares de GW9662 (n=4)
	Generalizado	Treinamento generalizado (10 semanas); injeção intramuscular de salina 0.9% (n=5)	Treinamento generalizado (10 semanas); injeção intramuscular de carragenina (n=5)	Treinamento generalizado (10 semanas); injeção intramuscular de GW9662 (n=5)
	Individualizado	Treinamento individualizado (10 semanas); injeção intramuscular de salina 0.9% (n=5)	Treinamento individualizado (10 semanas); injeção intramuscular de carragenina (n=5)	Treinamento individualizado (10 semanas); injeção intramuscular de GW9662 (n=5)

Tabela 1. Os animais foram divididos em dois grandes grupos de treinamento e um grupo controle principal, compostos por seus subgrupos de tratamento, de acordo com o objetivo do estudo. Os grupos controles são compostos por animais que não executaram os protocolos treinamento proposto, servindo de controle para as injeções das drogas e o teste comportamental. Cada protocolo de treinamento possui um grupo de controle, carragenina e antagonista de PPAR γ (GW9662) e controle somente com treinamento.

3.2.3 Procedimentos Gerais

As sessões de experimentos foram realizadas durante a fase clara entre 9h e 17h em sala silenciosa, com temperatura ambiente mantida a 25°C (ROSLAND, 1991). Durante os procedimentos experimentais os animais não tiveram acesso à água ou à comida.

3.2.4 Protocolo de adaptação meio líquido

Todos os animais submetidos à natação foram previamente adaptados ao meio líquido de maneira padronizada. O objetivo dessa adaptação é minimizar o estresse dos animais frente ao meio líquido e aos pesos atados ao dorso, sem promover adaptações fisiológicas decorrentes do treinamento físico (GOBATTO et al., 2001). A adaptação foi de 14 dias de contato com o meio líquido, dividido em três etapas: a primeira etapa permite a adaptação apenas ao meio líquido e com a possibilidade de contato com o solo; a segunda etapa permite a adaptação ao meio líquido sem contato com o solo; e a terceira etapa permite a adaptação ao peso atado ao dorso do animal em meio líquido. Na última etapa, o peso atado ao dorso do animal equivale a 3% da massa corporal. Descrição detalhada do protocolo:

- (1) Primeira etapa - 1º ao 3º dia: Água rasa (3 cm), durante 15 minutos;
- (2) Segunda etapa - 4º ao 8º dia: Água profunda (80 cm) e aumento diário de 2 minutos, começando com 2 minutos no 4º dia e terminando com 10 minutos no 8º dia;
- (3) Terceira etapa - 9º ao 14º dia: Água profunda (80 cm), 3% da massa corporal e aumento diário de 2 minutos, começando com 5 minutos no 9º dia e terminando com 15 minutos no 14º dia;

3.2.5 Protocolo para avaliação da Máxima Fase Estável de Lactato (MFEL)

A máxima fase estável de lactato (MFEL) é um teste de intensidade usado em humanos (BILLAT et al., 2003), de característica não exaustiva, considerado padrão-ouro, quando o objetivo é determinar a intensidade de limiar anaeróbio em exercício contínuo. Foi padronizado para natação com ratos Wistar (GOBATTO et al., 2001; MANCHADO et al., 2006). Para identificação da intensidade de MFEL, foram aplicados testes com as intensidades randomizadas entre: 4,5; 5,0; 5,5 e 6,0% do peso corporal, através de pesos atados ao dorso dos animais. Os animais nadaram individualmente no tanque, durante 25 min. com a intensidade do dia e tiveram um intervalo de no mínimo 24h e no máximo 48h, entre os testes. O intervalo teve o objetivo de não causar exaustão e possibilitar a recuperação da cauda, evitando grandes estresses dos animais.

As amostras de sangue foram coletadas cinco vezes durante o teste: antes do início (t0) e após 5 min (t5), 10 min (t10), 15 min (t15) e 25 min (ARAUJO et al., 2010; PETRIZ et al., 2015). O período de cada coleta não excedeu 20 segundos e apenas uma incisão foi realizada no “t0”, para minimizar o estresse e também porque o fluxo sanguíneo aumentado durante o exercício facilitou as coletas no decorrer do teste. As intensidades de teste não foram repetidas. O lactato foi analisado por método enzimático, com a utilização da técnica de espectrofotometria e os seus resultados foram utilizados para a prescrição do exercício no grupo de treinamento físico individualizado. A intensidade escolhida foi aquela em que o nível da lactacidemia permaneceu estável (<1 mmol/L de sangue) dos 10-25min de nado (MANCHADO et al., 2006; PETRIZ et al., 2015) (anexo 2).

Após a semana 5 e ao final do treinamento, os animais de ambos os grupos executaram novamente o teste de MFEL. Para isso, a intensidade do primeiro dia de teste foi a MFEL obtida no procedimento anterior e o protocolo foi o mesmo descrito acima.

3.2.6 Análise da concentração sanguínea de lactato

A coleta de sangue foi realizada através da extremidade da cauda e capilares calibrados com heparina foram utilizados para retirar 25µl. Após a coleta, o sangue foi transferido para um tubo contendo 400µl de ácido tricloroacético (TCA) 4%, foi centrifugado e o sobrenadante armazenado entre 2-8°C. Para as análises utilizamos uma solução reativa contendo: glicina, EDTA, Hidrazina Hidrato 24%, dinucleótido de nicotinamida e adenina e lactato desidrogenase, com pH 9,45. A análise foi realizada em espectrofotômetro, a 340 nm.

3.2.7 Protocolos de exercício físico aeróbio

O treinamento físico aeróbio foi realizado através da natação. Todos os procedimentos relacionados à natação para ratos (avaliação e prescrição do treinamento) foram realizados em tanques cilíndricos e individuais, com superfície lisa. A temperatura da água foi mantida a $31 \pm 1^\circ\text{C}$. Tanto nos testes, como no período de treinamento, pesos referentes à porcentagem corporal dos animais, foram atados ao dorso e utilizados como forma de implementar intensidade nos exercícios.

Com o objetivo de verificar o a capacidade aeróbia dos animais em cada protocolo, analisamos diferentes parâmetros, obtidos durante as 10 semanas de exercício, como o volume total de treinamento, a carga total de treino, a porcentagem do volume total completado e a Máxima Fase Estável de Lactato (MFEL) em três períodos. Vale ressaltar, que o volume diário previsto era de 40 minutos e o volume total previsto em 50 dias para ambos os treinamentos era de 2000 minutos. Anotações de tempos individuais foram feitas durante as sessões de treino, se necessário. A carga de treino é referente ao produto entre intensidade e volume (% massa corporal x volume).

3.2.8 Treinamento físico com intensidades individualizadas

O protocolo de treinamento individualizado teve como característica o metabolismo energético aeróbio. Tem sido descrito que, para ratos Wistar em natação, intensidades entre 4% e 6% do peso corporal, e volume de treino

entre 30 e 60 minutos, há a predominância do metabolismo aeróbio (BILLAT et al., 2003; MANCHADO et al., 2006; CUNHA et al., 2009; SIGWALT et al., 2011). Dessa forma, o volume do treinamento foi de 40 minutos/dia. A intensidade foi individualizada e prescrita de acordo com o teste prévio, portanto os animais nadaram a 80% da MFEL. A frequência foi de 5 dias semanais e a duração total do treino foi de 10 semanas, visando um protocolo de exercício crônico.

Com o intuito de ajustar a carga de treinamento, respeitando o princípio da adaptação, um novo teste de MFEL foi aplicado após cinco semanas de treinamento. O protocolo de teste permaneceu o mesmo. A intensidade inicial foi àquela determinada no teste inicial e a variação foi de 0.5% para as outras seguintes. Sendo assim, o reajuste das intensidades de treinamento ocorreu uma vez durante as 10 semanas de treino.

3.2.9 Treinamento físico com intensidades não individualizadas

O treinamento físico executado de forma generalizada também teve o volume de 40 minutos/dia. A intensidade foi de 4% da massa corporal para todos os animais, sem a adição de peso ao longo dos treinos, apenas reajuste semanal de acordo com a mudança da massa corporal dos animais. A frequência e a duração total foram as mesmas do treinamento individualizado. O objetivo é que o treino tenha as características de metabolismo energético aeróbio e se caracterize como um protocolo crônico, assim como o treino individualizado, porém sem individualização da carga de acordo com a intensidade ideal de treino.

3.2.10 Administração intramuscular de drogas

Para a indução da hiperalgesia muscular inflamatória, 72 horas após o último dia de teste de MFEL, os ratos foram brevemente anestesiados por inalação de isoflurano e a carragenina (100 µg/músculo; SCHIAVUZZO et al., 2015) foi administrada, através de uma seringa Hamilton de 50µl e agulha 30

gauge no ventre do músculo gastrocnêmio direito dos animais. O volume final das administrações foi de 50µl, volume suficiente para induzir hiperalgesia muscular, com pico no tempo de 3 horas após a injeção (DINA et al., 2008; SCHIAVUZZO et al., 2015).

Para avaliar a participação do PPAR γ na hipotalgesia muscular induzida por exercício, o antagonista seletivo de receptor, GW9662 (2-chloro-5-nitro-N-phenylbenzamide (curva dose-resposta: 3ng/músculo, 6ng/músculo e 9ng/músculo) (NAPIMOGA et al., 2007), foi administrado no ventre do músculo gastrocnêmio direito, 20 minutos antes da carragenina. A injeção contralateral do antagonista foi administrada no músculo esquerdo, na melhor dose da curva. Todos os reagentes foram adquiridos da Sigma-Aldrich (Brasil) e diluídas em salina (NaCl 0.9%).

3.2.11 Quantificação da hiperalgesia muscular mecânica

A metodologia empregada para a quantificação da hiperalgesia mecânica foi proposta por Randall & Selitto (1957). Para o teste utilizamos um analgesímetro (Insight, Brasil), que aplica uma força mecânica linear com aumento gradual no ventre do músculo gastrocnêmio no membro traseiro de ratos. A ponta de pressão do equipamento é colocada na mesma região do músculo injetado com carragenina, antagonista ou solução controle. Todas as análises de hiperalgesia muscular foram feitas no período de 3 horas após as injeções.

O registro do limiar é quantificado quando animal induz comportamento relacionado à dor (movimento de fuga, retirada do membro, aumento da frequência respiratória, vocalização e piloereção), pela média de três medidas realizadas em intervalos de 5 minutos. A hiperalgesia é quantificada pela variação no limiar nociceptivo mecânico, calculado pela subtração do limiar nociceptivo mecânico registrado após 3 horas da indução da hiperalgesia pela carragenina dos valores basais, coletados no mesmo dia, prévios as injeções (Δ = média basal - média pós-injeção). (SCHIAVUZZO et al., 2015). Como controle do limiar nociceptivo basal, análises foram realizadas

imediatamente antes do início dos treinos e a cada 15 dias ao decorrer das 10 semanas de treinamento, com exceção das semanas dos testes de MFEL. Nessa etapa, não houve a indução de dor muscular por drogas, apenas o controle comportamental.

3.2.12 Quantificação de citocinas pelo teste de ELISA

Com o objetivo de analisar se o treinamento modulou a expressão de citocinas inflamatórias via ativação do receptor PPAR γ , de modo a contribuir com a redução da resposta dolorosa, executamos o teste de ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*). Para isso, o músculo gastrocnêmio foi removido antes do início do treinamento (Naive) e 3 horas após a administração de carragenina, salina ou carragenina com GW9662. As amostras foram pesadas e homogeneizadas em solução de PBS contendo coquetel inibidor de proteases (Roche, Suíça). Foram homogeneizadas com Bead Ruptor e centrifugadas a 10.000 rpm por 5 minutos a 4° C. O sobrenadante foi utilizado para avaliar as citocinas TNF- α , IL-1 β , CINC-1 e IL-10 por ELISA. As quantificações foram realizadas através dos kits Quantikine R&D. Systems. Todos os procedimentos seguiram as instruções do fabricante.

3.2.13 Análise dos Dados

Os dados com homogeneidade de variância foram analisados através da aplicação do teste estatístico análise de variância (ANOVA) *One-Way* e *Two-Way*, com comparações múltiplas aplicando-se os pós-testes de Tukey e Bonferroni, respectivamente. Quando apropriado, o teste *t* de Student foi usado para comparações de dados pareados. Para todos os testes, o nível de significância estabelecido é de $P < 0.05$. Os dados estão apresentados pela média $\pm$ o Erro Padrão da média. O programa Prisma Graph Pad foi utilizado para a realização dos cálculos estatísticos.

4. PROJETO EXECUTADO NA ALEMANHA

Título: *Efeitos do tratamento com exercício físico agudo na responsividade de neurônios do corno dorsal em um modelo animal de dor muscular lombar*

4.1 Objetivos

Uma vez que a sensibilização de neurônios é um fator chave para o desenvolvimento de condições dolorosas crônicas, o objetivo desse estudo foi investigar a influência do tratamento de um protocolo agudo de exercício físico no comportamento doloroso de animais submetidos a um modelo de dor muscular lombar não específica, induzida por repetidas injeções de NGF. Verificar o efeito do protocolo de exercício na responsividade dos neurônios do corno dorsal, avaliando se a sensibilização dos neurônios com entradas sinápticas (*inputs*) provindas de músculos lombares poderia ser prevenida.

4.2 Materiais e Métodos

4.2.1 Animais

Esses experimentos foram executados com ratos machos adultos da raça Sprague-Dawley (300-420 g, n=11). Os animais foram mantidos em gaiolas plásticas (três por gaiola) contendo maravalha, em ambiente com controle de luminosidade (ciclos claro/escuro de 12hs) alimentação e água, *ad libitum*. Os procedimentos foram executados de acordo com a lei Alemã de proteção aos animais e das propostas éticas da Associação Internacional para Estudos da Dor (ZIMMERMANN, 1983). Os animais foram divididos em dois grupos de análise:

- (1) Controle – ratos submetidos a duas injeções de NGF e ao procedimento de registro de atividade de neurônios (n=5);
- (2) Tratamento com exercício – ratos submetidos a duas injeções de NGF, tratamento com exercício e procedimentos de registro de atividade dos neurônios (n=6);

4.2.2 Procedimentos Gerais

As sessões de experimentos foram realizadas durante a fase clara entre 9h e 17h em sala silenciosa, com temperatura ambiente mantida a 25°C (ROSLAND, 1991). Durante o teste os animais não tiveram acesso à água ou à comida. Todos os procedimentos relacionados à natação (adaptação e exercício) foram realizados em tanques cilíndricos e individuais, com superfície lisa, no mesmo período do dia. A temperatura da água foi mantida a $31 \pm 1^\circ\text{C}$.

4.2.3 Modelo de dor muscular lombar não específica (LBP)

Injeções de 50µl de NGF (HOHEISEL et al., 2013) em uma concentração de 0.8µM foram administradas no músculo multifidus (MF), ipsilateralmente a 3 mm do processo espinhoso L5. O NGF foi dissolvido em salina tamponada com fosfato (PBS) e a solução foi ajustada em pH 7.2-7.3. Duas injeções de NGF foram administradas em um intervalo de cinco dias, no mesmo local. A concentração usada é conhecida por causar hiperalgesia quando injetada tanto em humanos quando em animais (WEINKAUF et al., 2015).

4.2.4 Teste de limiar de dor por pressão (PPT)

O teste de limiar de dor por pressão (PPT) no músculo multifidus foi testado com um *Von Frey* eletrônico com ponta côncava (3.5 mm; anexo 4), antes da primeira injeção de NGF como medida basal, 2 e 5 dias após a primeira injeção, nos animais exercitados e em animais controles. A intensidade de estímulo (em grama) foi gradualmente aumentada no músculo. O PPT foi definido como a menor intensidade de pressão necessária para gerar uma reação relacionada à dor, no animal (comportamento de retirada, movimentos de escape e vocalização). A ponteira côncava ativa nociceptores de tecidos profundos, excluindo respostas cutâneas (CHACUR et al., 2009).

4.2.5 Adaptação ao meio líquido

Todos os animais submetidos ao tratamento com exercício foram previamente adaptados ao meio aquático. O protocolo foi adaptado de estudos (BATISTA et al., 2010; ARAUJO et al., 2013) e foi executado seis dias antes da primeira injeção de NGF. No primeiro e segundo dias, os animais tiveram contato com a água de nível raso (3 cm) por 15 minutos. No terceiro dia, entraram em contato com água profunda (30 cm) por 5 minutos e o tempo foi aumentado em 5 minutos por dia. No sexto dia, os animais tiveram contato com a água profunda por 20 minutos, utilizando pesos atados ao dorso (2% da massa corporal).

4.2.6 Protocolo de tratamento com exercício físico

O protocolo de exercício teve início 15 minutos após a primeira injeção de NGF (Figura 1, dia 7) e seguiu nos cinco dias seguintes (Figura 1, dia 7-11). Os animais nadaram 30 minutos por sessão, com pesos de 4% da massa corporal atadas ao dorso.

Figura 1

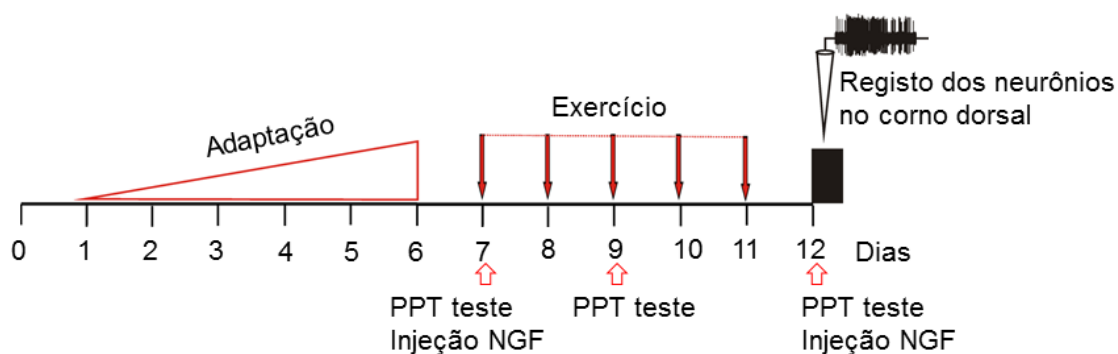


Figura 1. Cronologia do tratamento com exercício. Por seis dias, os animais foram submetidos a um protocolo de adaptação ao meio líquido e aos pesos usados no exercício (dia 1 ao dia 6). No dia 7, o teste de PPT foi executado e imediatamente após, a primeira injeção de NGF foi aplicada no músculo MF. O teste de PPT foi repetido nos dias 7 e 9. O protocolo de exercício por natação foi executado nos cinco dias entre as injeções, iniciando diretamente após a primeira injeção (dia 7 ao dia 11). Um dia após o último exercício, a segunda injeção de

NGF foi aplicada no mesmo local e foi feito o registro de neurônios do corno dorsal (dia 12) pelo período de 4 horas (barra preta).

4.2.7 Procedimentos cirúrgicos gerais

Os animais foram profundamente anestesiados com Tiopental Sódico (Trapanal®, Alemanha), inicialmente com 100 mg kg⁻¹ i.p., seguido de infusões do mesmo anestésico em uma taxa de 10 to 20 mg kg⁻¹ h⁻¹ utilizando bomba de infusão, para manter a profundidade da anestesia. As doses foram profundas o suficiente para abolir qualquer reflexo flexor ou reações de mudança de pressão arterial (excedentes a 10 mm Hg) ao estímulo nocivo. Relaxamento muscular foi induzido com brometo de pancurônio (Pancuronium Inresa, Alemanha; 0,6 mg kg⁻¹ h⁻¹ i.v.). Um cateter foi introduzido na veia jugular externa para administração do anestésico, e outro na artéria carótida comum para controle da pressão arterial. Tanto a temperatura corporal quanto a pressão, foram constantemente monitoradas e mantidas a níveis fisiológicos adequados (acima de 80 mmHg, 37-38 °C). Os animais foram artificialmente ventilados com uma mistura de gases de 47.5 % O₂, 2.5 % CO₂, and 50 % N₂.

Para acesso coluna vertebral, a pele foi cortada na linha média, sentido craniocaudal. A laminectomia foi executada para expor os segmentos espinhais da L1 até a L5. As raízes dorsais de L3 até L5 foram devidamente expostas para aplicação de estímulo elétrico (figura 2A). Esse processo não afetou os músculos caudais e a fáscia sobreposta (MURASE et al., 2010). Ao final do experimento, os animais foram eutanasiados com uma overdose de anestésico.

4.2.8 Registro dos neurônios do corno da raiz dorsal

Registros extracelulares de neurônios do corno dorsal, foram feitos ipsilateral ao músculo injetado (multifidus esquerdo), no segmento L2 com microeletrodo de vidro preenchido com salina 5% (5% NaCl) (10-38 MΩ). Penetrações do microeletrodo foram feitas em uma profundidade de até 1000 μm (figura 2B). Um eletrodo bipolar foi ligado as raízes dorsais de L3-L5, para

gerar um estímulo elétrico de procura e desencadear potenciais de ação no corno dorsal, durante a penetração do microeletrodo (intensidade 5V, amplitude 0.3 ms, taxa de repetição 0.33 Hz). Registros dos potenciais de ação foram monitorados em um osciloscópio e digitalizados via CED-1401 interface (taxa de amostragem 20 kHz) pelo *software* Spike 2 (*Cambridge Electronic Design Limited*, UK). Todos os neurônios dando respostas estáveis aos estímulos foram aceitos nesse estudo.

Durante o registro, alguns parâmetros foram anotados para a caracterização de cada neurônio. A profundidade de registro refere-se à posição do neurônio no corno dorsal, possibilitando verificar a distribuição nas lâminas da medula. O limiar do estímulo elétrico é a intensidade necessária para gerar potenciais de ação e a latência é o tempo entre o estímulo elétrico e o início do potencial de ação do neurônio.

Além disso, os neurônios foram registrados por 60 segundos sem nenhum tipo de estímulo intencional, para testar a taxa de atividade espontânea. Se houvesse potenciais de ação em uma taxa de no mínimo 1 impulso/minuto (imp/min), o neurônio era considerado como tendo atividade espontânea. Esse comportamento é relacionado com geração de dor espontânea em humanos.

Os campos receptivos nos tecidos e o tipo dos neurônios (nocivos ou não nocivos) foram identificados com estímulos mecânicos das estruturas lombares bilaterais (ambas as patas traseiras, quadril, parede abdominal e cauda; figura 2C). Como estímulo inócuo foi usado toque com pincel (parte em escova) e pressão moderada com uma ponta côncava; para os estímulos nocivos, uma pinça pontiaguda foi usada para beliscar a pele e a fáscia, e a pressão nociva nos músculos, foi feita com objeto de ponta côncava.

O critério de qualificação utilizado foi a resposta dada pelo neurônio, por exemplo: quando um neurônio respondeu ao toque ou ao belisco da pele, ele é considerado um neurônio com entrada cutânea, bem como seu campo receptivo. Nos neurônios que respondem a pressão moderada ou nociva aplicada a um músculo ou a outras estruturas somáticas profundas, mas que não respondem ao toque e ao estímulo nocivo da pele sobreposta considerou-

se que a campos receptivos está no músculo ou em outras estruturas profundas.

Os tecidos somáticos profundos da região lombar puderam ser testados diretamente, porque a pele dessa área estava aberta. Para identificar um campo receptivo na fáscia toracolombar (TLF), a estrutura foi pressionada com uma pinça. Injeções intramusculares de salina hipertônica (NaCl a 5%) foram dadas para identificar campos receptivos em um músculo abaixo de um campo localizado na fáscia ou pele.

O tamanho e a localização dos campos receptivos foram registrados num contorno padrão do corpo de rato e desenhados posteriormente com o software Corel Draw®. A atividade elétrica em repouso de cada neurônio é determinada antes dos estímulos experimentais e da marcação do campo. O neurônio foi definido como tendo atividade de repouso se dispara ≥ 1 impulso por minuto (imp/min).

Figura 2

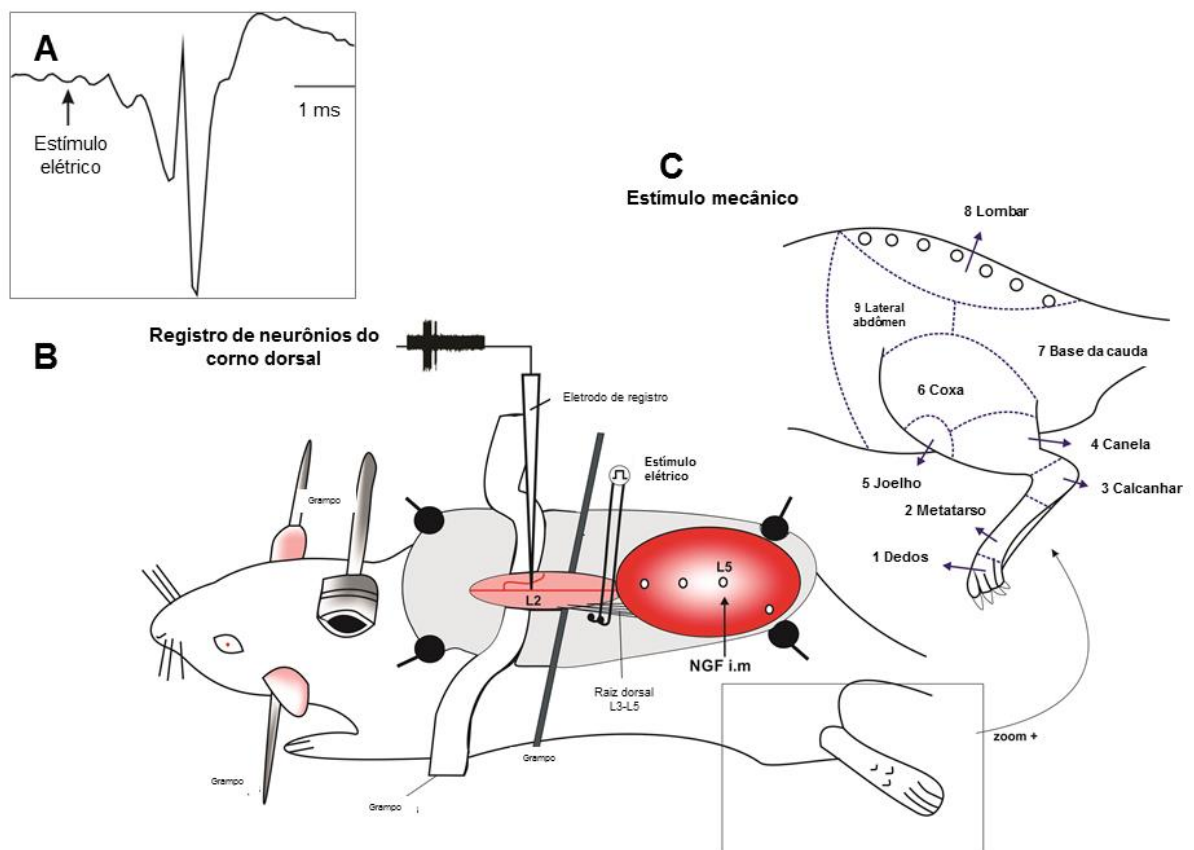


Figura 2 – Organização experimental do registro de neurônios do corno dorsal. (A) Exemplo de um potencial de ação registrado após o estímulo elétrico das raízes dorsais (estímulo de procura). (B) O animal foi fixado em uma armação de metal com grampos. A região lombar da L1 até a L5 foram expostas pela laminectomia. Injeções intramusculares de NGF foram feitas no músculo MF (NGF i.m.), lateralmente ao processo L5. Como estímulo de procura, as raízes dorsais de L3 a L5 foram eletricamente estimuladas com um eletrodo bipolar, para identificar neurônios secundários individuais. Registros extracelulares dos neurônios no corno dorsal foram feitos ipsilateralmente ao músculo injetado, no nível do segmento L2. (C) Estímulos mecânicos e químicos foram feitos bilateralmente, nas 9 áreas definidas no corpo do animal, para identificar o tipo de neurônio registrado.

4.2.9 Classificação dos campos receptivos dos neurônios do corno dorsal

Os tipos dos campos receptivos foram analisados de acordo com as fontes de entrada (neurônio mecânico de baixo limiar [LTM]; neurônio mecânico de alto limiar [HTM]; neurônios de ampla faixa dinâmica [WDR]; neurônios nociceptivos [HTM tecidos profundos] e neurônios não-nociceptivos [LTM tecidos profundos]) e o tipo de tecido, determinando o campo receptivo (HOHEISEL et al., 2013; ZHANG et al., 2017).

Nesse estudo, os neurônios estão apresentados de acordo com o tecido das respostas aos estímulos mecânicos (local dos campos receptivos), nos seguintes tipos (HOHEISEL et al., 2013, 2015):

- (1) *Campo receptivo cutâneo*: responde somente ao estímulo na pele e não aos estímulos de tecidos profundos;
- (2) *Campo receptivo profundo*: responde aos estímulos de tecido profundo (fáscia e músculo), mas não à estimulação na pele;
- (3) *Campo receptivo convergente*: responde aos estímulos em, pelo menos, dois tipos de tecidos, como pele e tecidos profundos ou dois tecidos profundos diferentes;
- (4) *Sem campo receptivo/desconhecido*: quando não responde aos estímulos utilizados em qualquer tecido;

4.2.10 Análise dos Dados

Dados estão expressos em média $\pm$ Erro Padrão da média (EP). A proporção de neurônios está expressa em porcentagem do total de neurônios

de cada grupo. O teste U de Mann-Whitney foi usado para análises dos parâmetros de registro dos neurônios e o teste de Wilcoxon para os dados de PPT. O teste exato de Fisher foi usado para a comparação de proporção de neurônios. O nível de probabilidade de $P < 0.05$ foi considerado significativo. Todos os dados foram analisados no programa Prisma Graph Pad.

5. RESULTADOS OBTIDOS NO BRASIL

Os seguintes resultados são referentes ao projeto de pesquisa principal desenvolvido na Faculdade de Ciências Aplicadas (FCA UNICAMP).

5.1 Parâmetros gerais de treinamento generalizado e individualizado

Os parâmetros de cada treinamento foram comparados entre os grupos para avaliação do nível de treinabilidade dos animais. Não foi observado diferença estatística no volume total, carga total, porcentagem do volume e MFEL pré, 5 semanas e 10 semanas (tabela 2, teste *t* de Student, $P < 0.05$). Comparações no treinamento generalizado e no individualizado demonstraram diferença significativa entre o período pré-treinamento e 5 semanas (tabela 2 e figura 3, teste *t* de Student, $P < 0.05$ para ambos os grupos), indicando uma queda na MFEL dos animais de cada grupo a partir da 5ª semana. Entretanto, não há diferença entre a semana 5 e a semana 10 (tabela 2 e figura 3, teste *t* de Student, $P < 0.05$ para ambos os grupos), indicando estabilidade entre esses períodos.

Tabela 2 – Parâmetros gerais do treinamento generalizado e treinamento individualizado (média $\pm$ EP).

Parâmetros	Treinamento	
	Generalizado (n=35)	Individualizado (n=20)
Volume total (min)	1825.04 $\pm$ 163.43	1916.79 $\pm$ 64.51
Porcentagem do volume (%)	91.25 $\pm$ 8.17	95.84 $\pm$ 3.23
Carga total	7300.16 $\pm$ 653.73	7818.12 $\pm$ 2133.27
MFEL pré (%)	6.11 $\pm$ 0.96	6.05 $\pm$ 0.93
MFEL 5 semanas (%)	4.68 $\pm$ 1.17 (*)	4.64 $\pm$ 1.09 (+)
MFEL 10 semanas (%)	4.68 $\pm$ 1.43	5.07 $\pm$ 1.36

Figura 3 - Intensidade da Máxima Fase Estável de Lactato ao longo do treinamento

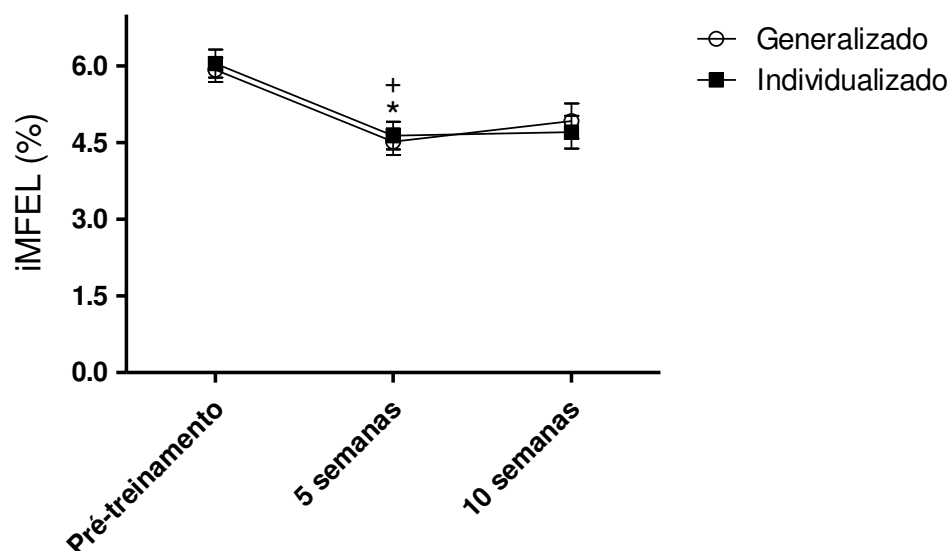


Tabela 2 e figura 3 – Volume total: tempo total em minutos, de todas as sessões de treinamento. Porcentagem do volume: porcentagem do treinamento que foi completado. Carga total: carga referente a todas as sessões de treino, sendo essa o produto da intensidade pelo volume. MFEL pré: MFEL determinada pelo teste feito prévio ao início dos treinos. MFEL 5 semanas: MFEL determinada pelo teste feito após 5 semanas de treino. MFEL 10 semanas: MFEL determinada pelo teste feito após 10 semanas de treino. Não há diferenças significativas nas comparações dos parâmetros entre os grupos de treinamento generalizado e individualizado (teste *t* de Student, $P > 0.05$). Não há diferença significativa entre os dois grupos de treinamento nos três períodos de avaliação da MFEL (tabela 2 e figura 3 ANOVA *two-way*, pós-teste de Bonferroni, $P > 0.05$, $n = 35$). Tanto no treinamento generalizado quanto no treinamento individualizado há diferença significativa na comparação entre o período MFEL pré-treinamento e 5 semanas (teste *t* de Student, $P < 0.05$ para ambos os grupos; Generalizado: símbolo “*”; Individualizado: símbolo “+”). Não há diferença significativa na comparação entre o período MFEL pré-treinamento e 10 semanas (teste *t* de Student, $P > 0.05$ para ambos os grupos). Os dados apresentados em média $\pm$ EP.

5.2 Hipoalgesia muscular é induzida pelo treinamento individualizado e generalizado

Análises do limiar nociceptivo foram realizadas quinzenalmente durante o período de treinamento. Foi possível observar variações no limiar nociceptivo dos grupos treinados em relação ao grupo não treinado. Os animais do grupo de treinamento individualizado apresentaram um limiar nociceptivo maior nas semanas 2, 4 e 8 (figura 4, ANOVA *two-way*, $P < 0.05$). Os animais que treinaram com intensidades generalizadas apresentaram um

limiar nociceptivo maior apenas na semana 4 (figura 4, ANOVA two-way, $P<0.05$). A diferença entre os grupos de treino apareceu apenas na semana 2 (figura 4, ANOVA two-way, $P>0.05$). Na semana 10, as medidas não apresentam diferença significativa entre os grupos de análise (figura 4, ANOVA two-way, $P>0.05$).

Figura 4

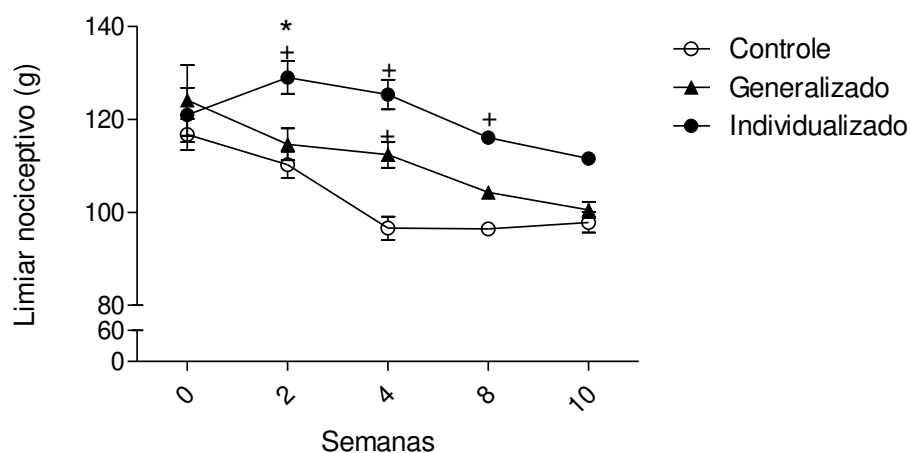


Figura 4. Avaliação no limiar nociceptivo ao longo do período de treino. Resultados comparativos entre os grupos de treinamento generalizado ($n=35$), individualizado ($n=20$) e os animais controle ($n=12$), sobre o limiar nociceptivo ao longo das 10 semanas de treinamento. O protocolo de treinamento generalizado aumentou o limiar nociceptivo na semana 4, enquanto o individualizado nas semanas 2, 4 e 8, quando comparados ao grupo controle. Quando comparado ao treinamento generalizado, o individualizado apresentou limiar maior apenas na semana 2. Na décima semana não foi observado diferença significativa entre os grupos (ANOVA two-way, teste de Bonferroni, $P>0.05$). O símbolo “+” indica diferença significativa entre os grupos de treinamento e o grupo não treinado - controle (ANOVA two-way, teste de Bonferroni, $P<0.05$). O símbolo “*” indica diferença significativa entre o grupo de treino individualizado e o grupo de treino generalizado (ANOVA two-way, teste de Bonferroni, $P<0.05$). Dados apresentados em média $\pm$ erro padrão.

Com isso, ao final do período de treinamento, administramos carragenina no músculo gastrocnêmio e analisamos o desenvolvimento da hiperalgesia muscular. A administração de carragenina ($100 \mu\text{g}/\text{músculo}$)

induziu hiperalgesia muscular em todos os grupos (não treinado, treinamento generalizado e treinamento individualizado) quando comparados aos seus grupos controles que receberam salina intramuscular NaCl 0,9% (figura 5, ANOVA one-way, $P < 0.05$). Além disso, os resultados demonstraram que nos animais treinados, a hiperalgesia induzida pela carragenina foi significativamente menor do que a induzida nos animais sedentários, confirmando que o exercício foi capaz de induzir hipoalgesia muscular (figura 5, ANOVA one-way, $P < 0.05$). As respostas hiperalgésicas induzidas pela carragenina nos dois grupos de treinamento não diferiram entre si (figura 5, ANOVA one-way, $P > 0.05$).

Figura 5

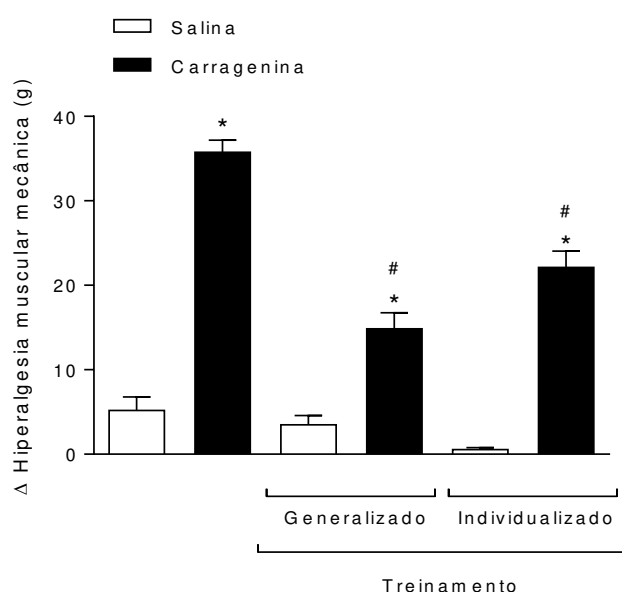


Figura 5. Hipoalgesia induzida por exercício generalizado e individualizado. A carragenina (100µg/músculo) induziu hiperalgesia muscular no grupo sem treino quando comparado ao grupo sem treino com salina. Da mesma forma, houve indução da hiperalgesia nos grupos treinados quando comparado aos animais treinados com salina. Tanto o exercício generalizado quanto o individualizado induziu hipoalgesia muscular quando comparados ao grupo sem treino que recebeu carragenina. Símbolo “*” indica respostas maiores que os grupos sem treino com salina (ANOVA *one-way*, pós-teste de Tukey, $P < 0.05$, treinados carragenina: $n=5$; treinados salina: $n=4$; sem treino carragenina: $n=4$). Símbolo “#” indica respostas significativamente

menores que o grupo sem treino com carragenina (ANOVA *one-way*, pós-teste de Tukey, $P < 0.05$, símbolo “#”; treinados carragenina: $n=5$; sem treino carragenina: $n=4$). Dados apresentados como média $\pm$ erro padrão.

5.3 Receptores PPAR γ estão envolvidos na hipoalgesia induzida pelo treinamento generalizado e individualizado

O pré-tratamento com o antagonista de receptores PPAR γ , GW9662 (9ng/músculo, mas não 3 ou 6ng) reverteu a hipoalgesia induzida pelo treinamento generalizado (figura 6A, ANOVA *one-way*, $P < 0.05$). A administração do GW9662 no músculo contralateral também reverteu a resposta hipoalgésica (figura 6A, barra listrada, ANOVA *one-way*, $P < 0.05$). O GW9662, quando administrado sozinho, não gerou alterações no limiar nociceptivo (figura 6A, teste T, $P > 0.05$). Semelhante ao treinamento generalizado, o pré-tratamento com GW9662 (9ng/músculo) reverteu a hipoalgesia induzida pelo treinamento individualizado (figura 6B, ANOVA *one-way*, $P < 0.05$). Esses resultados demonstram que os receptores PPAR γ estão envolvidos na hipoalgesia induzida pelo treinamento generalizado e individualizado.

Figura 6

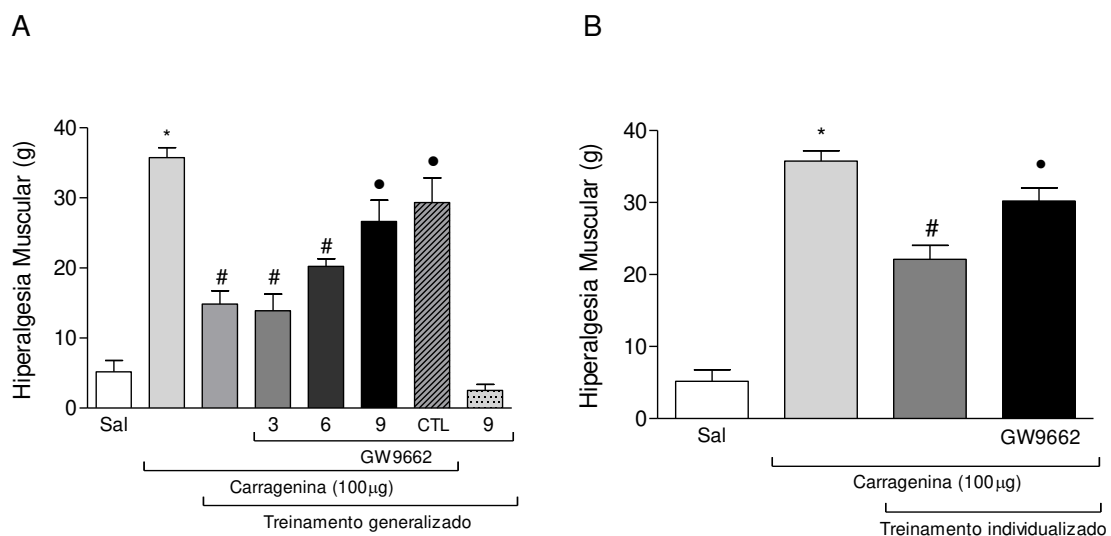


Figura 6. Envolvimento dos receptores PPAR γ na hipoalgesia induzida por treinamento generalizado e individualizado. (A) O pré-tratamento com GW9662 (9ng/músculo, mas não 3 e 6 ng/músculo) reverteu a hipoalgesia induzida pelo treinamento generalizado quando administrado tanto na pata ipsilateral quanto na contralateral. O GW9662 por si só. (B) O pré-tratamento com GW9662 (9ng/músculo) reverteu a hipoalgesia induzida pelo treinamento individualizado. O símbolo “*” indica respostas maiores que o grupo não treinado com salina (ANOVA one-way, pós-teste de Tukey, $P < 0.05$, $n = 4$). O símbolo “#” indica respostas menores que o grupo não treinado com carragenina (ANOVA one-way, pós-teste de Tukey, $P < 0.05$, símbolo “•”; treinados: $n = 5$; não treinados: $n = 4$). O símbolo “•” indica respostas sem diferença significativa quando comparado ao grupo não treinado com carragenina (ANOVA one-way, pós-teste de Tukey, $P < 0.05$, treinados: $n = 5$; não treinados: $n = 4$).

5.4 Receptores PPAR γ estão envolvidos na hipoalgesia induzida pelo exercício via modulação da citocina CINC-1

Uma vez que a hipoalgesia foi induzida por ambos os treinamentos e não houve diferença entre eles, por motivos éticos e metodológicos, a análise da concentração de citocinas pró-inflamatórias no tecido muscular foi realizada apenas nos animais submetidos ao treinamento generalizado. Os resultados demonstram que a administração de carragenina nos animais sedentários induziu aumento na concentração de CINC-1 (figura 7D, $p < 0,05$, ANOVA one-way, pós-teste de Tukey), mas não de TNF- α (figura 7A), IL-1 β (figura 7B) e IL-6 (figura 7C) quando comparada com a administração de salina e grupo Naive ($p > 0,05$, ANOVA one-way). Nos animais treinados, a administração de carragenina induziu redução na concentração de CINC-1 quando comparado com animal sedentário (figura 7D, $p < 0,05$, teste T), mas não alterou a concentração de TNF- α (figura 7A), IL-1 β (figura 7B) e IL-6 (figura 7C).

Para avaliarmos se os receptores PPAR- γ participam da hipoalgesia induzida pelo exercício via modulação da citocina pró-inflamatória CINC-1, o antagonista seletivo de receptores PPAR- γ foi utilizado. O pré-tratamento com GW9662 (9ng/músculo) reverteu a redução da concentração de citocinas induzida pela carragenina em animais treinados (Figura 7D, $p < 0,05$, teste T).

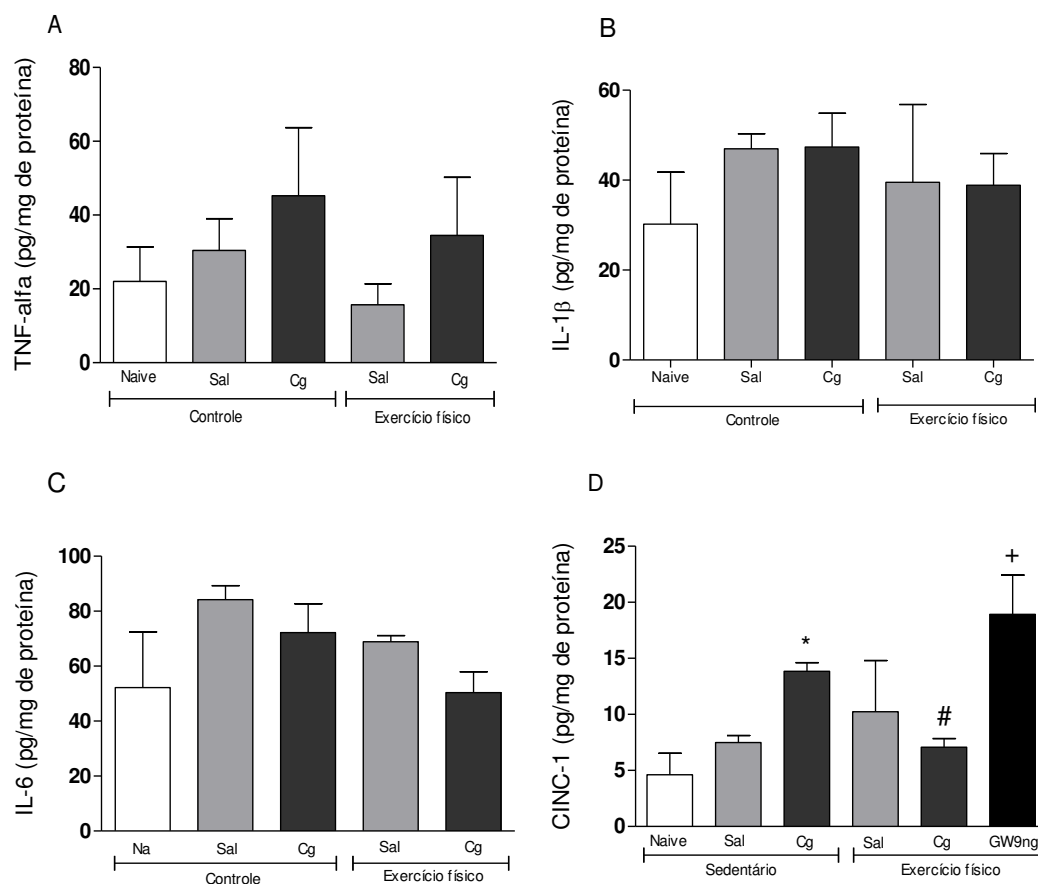
Figura 7

Figura 7. Modulação das citocinas pró-inflamatórias pelos receptores PPAR-γ na hipotalgia induzida pelo exercício. Nos animais sedentários, carragenina (Cg) aumentou a concentração tecidual de CINC-1 (D), mas não de TNF-α (A), IL-1β (B) e IL-6 (C), no pico da resposta hiperálgica (3 horas). Nos animais exercitados, a concentração tecidual de TNF-α (A), IL-1β (B) e IL-6 não foram alteradas pela carragenina. Entretanto, a concentração tecidual de CINC-1 (D) foi significativamente menor do que nos animais sedentários. Pré-tratamento com GW9662 (D, 9ng/músculo) preveniu a diminuição dos níveis de CINC-1 induzidos pelo exercício. O símbolo "*" indica valores maiores do que o grupo sedentário salina e naïve ($p < 0.05$, One Way ANOVA, teste Tukey). O símbolo "#" indica valores menores do que o grupo carragenina sedentário ($p < 0.05$, teste t). O símbolo "+" indica valores maiores do que o grupo exercício físico Cg ($p < 0.05$, teste t). Legendas: Na – Naïve, Sal - Saline; Cg – carragenina; GW - GW9662.

6. RESULTADOS OBTIDOS NA ALEMANHA

Os seguintes resultados são referentes ao projeto de pesquisa complementar, desenvolvido no Centro de Biomedicina e Tecnologia Médica (Universidade Médica de Mannheim).

6.1 Exercício físico não preveniu a hiperalgesia mecânica de curta duração induzida por NGF

A injeção de NGF no grupo controle gerou hiperalgesia mecânica de curta duração, dois dias após (Tabela 3, teste *t*, $P < 0.05$). Da mesma forma, a administração de NGF também induziu hiperalgesia no grupo de animais exercitados, no mesmo período (Tabela 3, teste *t*, $P < 0.05$). No período de cinco dias após a primeira injeção de NGF, houve o aumento da PPT, sem diferença significativa em relação ao basal (Tabela 3, teste *t*, $P > 0.05$), caracterizando uma recuperação da hiperalgesia em 5 dias após a primeira injeção. Análises comparativas do PPT entre o grupo controle e o grupo exercitado não demonstrou diferença significativa nos períodos avaliados (figura 8, ANOVA two-way, $P > 0.05$).

Tabela 3 – Limiar de pressão de dor (PPT)

Grupos		Basal (g)	2 dias (g)	5 dias (g)
Controle (n=5)	Média ± EP	480,20 ± 53,47	261,40 ± 28,59 (*)	457,00 ± 27,57
Exercício (n=6)	Média ± EP	604,17 ± 36,34	316,50 ± 19,70 (#)	646,35 ± 50,09

Tabela 3 – Média do limiar de pressão de dor, em gramas (g). O valor de PPT diminuiu no período de 2 dias, em comparação com o período basal, tanto para o grupo controle (símbolo “*”, teste *t*, $P < 0.05$) quando para o grupo exercitado (símbolo “#”, teste *t*, $P < 0.05$). Análises comparativas não demonstraram diferença significativa entre os grupos ao longo do tempo (ANOVA two-way, $P > 0.05$).

Os dados da PPT normalizados em porcentagem demonstram que o grupo controle e o grupo exercitado apresentaram uma diminuição da PPT em torno de 50% (controle: 56.95% ± 8.42; exercício: 53.95% ± 5.74) do valor inicial (figura 8, teste *t*, $P < 0.05$). Após cinco dias da primeira injeção de NGF, houve uma recuperação dos animais de ambos os grupos, representada pelo retorno da PPT a níveis próximos aos iniciais, e sem diferença significativa com

o basal (figura 8, teste t , $P>0.05$; controle: $98\% \pm 7.02$; exercício: $107.52\% \pm 7.98$).

Figura 8

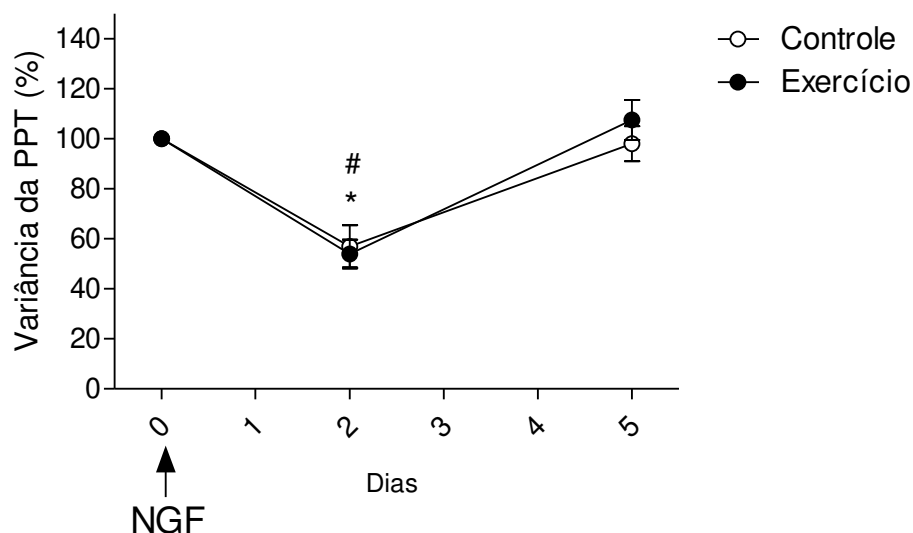


Figura 8. Dados normalizados da variação da PPT induzida pela primeira injeção de NGF na região lombar indicando hiperalgesia de curta duração. Comparações entre as porcentagens dos valores de PPT entre os grupos. Ambos os grupos diminuíram a PPT em torno de 50%, dois dias após a primeira injeção de NGF (teste t , $P<0.05$), recuperando em torno de 100%, cinco dias após a injeção (teste t , $P>0.05$). Os símbolos “*” e “#” indicam diferença significativa no grupo controle e exercitado em relação aos valores iniciais.

6.2 Parâmetros gerais do registro de neurônios no corno dorsal da medula

Os parâmetros gerais do registro de neurônios estão apresentados na tabela 3. Análises comparativas demonstraram uma diferença significativa entre o grupo controle e o grupo exercitado na atividade espontânea dos neurônios, sendo esse menor no grupo exercitado (tabela 3 e figura 9B, teste U de Mann-Whitney, $P<0.05$). Comparações na intensidade do limiar elétrico (mV), latência (ms) e a profundidade dos neurônios registrados (μm) no corno dorsal não apresentaram diferença significativa entre os grupos (teste U de Mann-Whitney; limiar elétrico: $P>0.05$; latência: $P>0.05$; profundidade: $P>0.05$; Tabela 3).

Tabela 3 – Parâmetros gerais do registro de neurônios em cada grupo

Grupo	N	Profundidade (μm)	Limiar (mV)	Latência (ms)	Atividade espontânea (imp/min)
<i>Controle</i>	40	$486.5 \pm 27,19$	380 ± 21.29	2.0125 ± 0.09	73.6 ± 23.1
<i>Exercício</i>	40	541.5 ± 32.96	353.75 ± 20.08	1.82 ± 0.07	$51.72 \pm 35.11(*)$

Tabela 3. N: número total de neurônios registrados em cada grupo. Profundidade: profundidade no corno dorsal (L2), onde o neurônio foi registrado. Limiar: menor intensidade do estímulo elétrico necessário para gerar potenciais de ação. Latência: tempo entre o estímulo elétrico e o registro do potencial de ação. Atividade de fundo: atividade de impulsos espontâneos sem algum estímulo intencional. O grupo exercitado demonstrou uma atividade espontânea dos neurônios, significativamente menor que o grupo controle (teste U de Mann-Whitney, $P < 0.05$).

Na proporção dos neurônios que desenvolveram atividade espontânea, o grupo de exercício apresentou uma quantidade menor que o grupo controle, sendo essa diferença significativa (figura 9A, teste exato de Fisher, $P < 0.05$, controle: 60%, 24/40; exercício: 25%, 10/40).

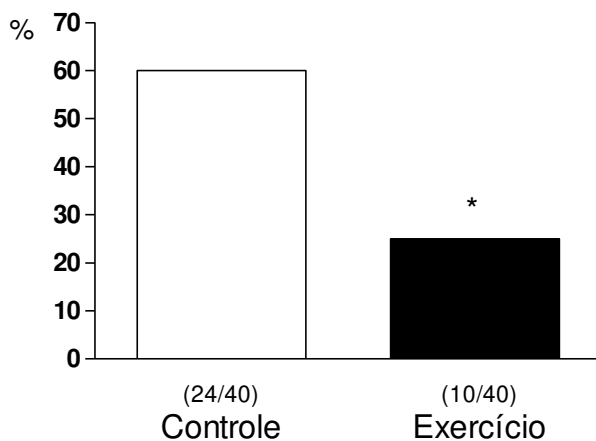
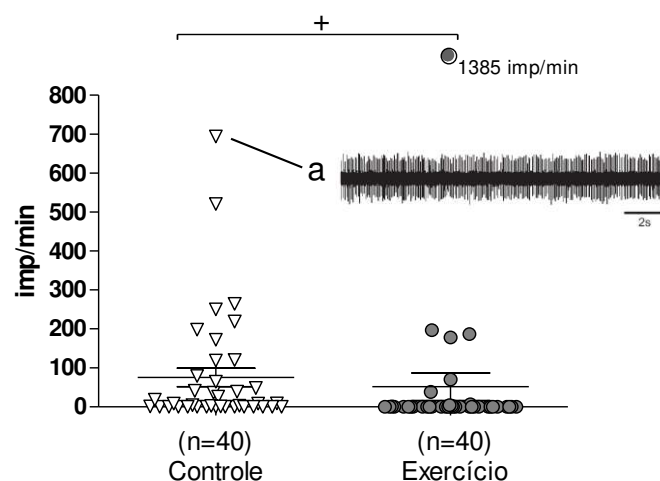
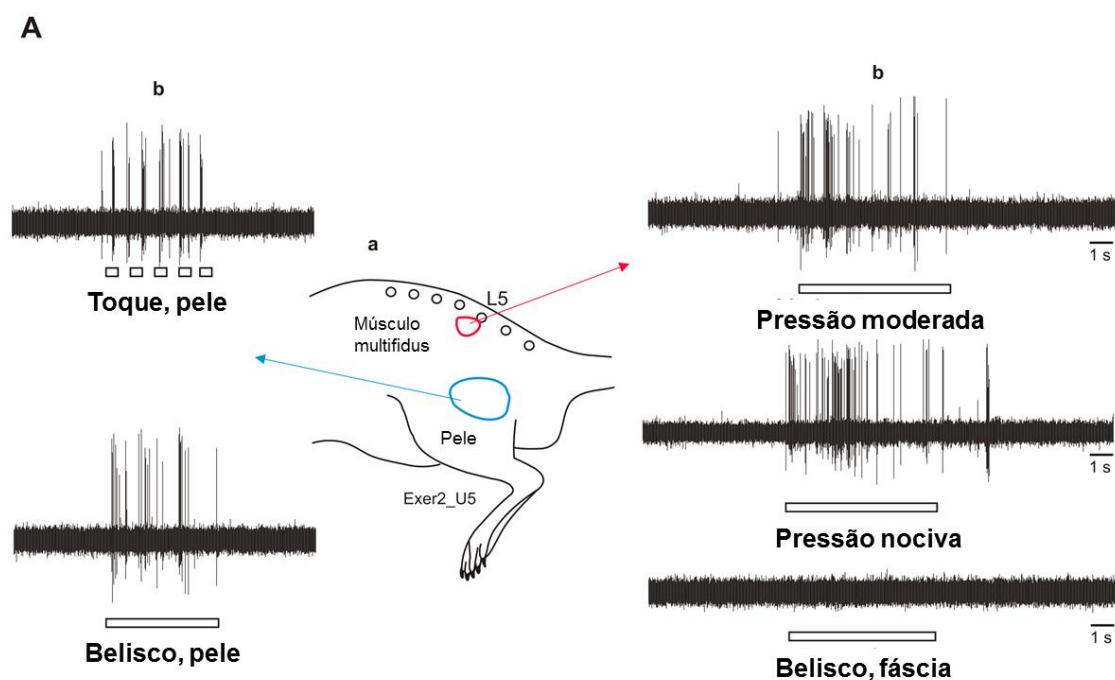
Figura 9**A** Proporção de neurônios com atividade espontânea**B** Atividade espontânea dos neurônios

Figura 9. Atividade espontânea dos neurônios do corno da raiz dorsal. (A) Proporção de neurônios com atividade de fundo. Grupo controle demonstrou 24 dos seus 40 neurônios com atividade espontânea, e o grupo exercitado demonstrou 10 de 40 (60% e 25%, respectivamente). O símbolo “*” indica diferença estatística entre os grupos de treino (teste exato de Fisher, $P < 0.05$; exercício: $n = 40$, controle: $n = 40$). **(B)** Atividade de impulso dos neurônios do corno dorsal. Média da atividade no grupo exercitado foi menor em comparação com o grupo controle (controle 76.3 imp/min; exercício 51.72 imp/min). a) Registro original da atividade de fundo (694 imp/min). O símbolo “+” indica diferença significativa entre o grupo exercitado e o controle (teste U de Mann-Whitney, $P < 0.05$).

6.3 Fontes de entrada dos neurônios registrados no corno dorsal

Exemplos de dois neurônios com fontes de entrada convergente, registrados após as duas injeções de NGF e com o tratamento do exercício, estão demonstrados na figura 10. Ambos os neurônios desenvolveram campos receptivos na pele e na região lombar. A figura 10A é um neurônio que respondeu a estímulos inócuos e estímulos nocivos na pele e também a estímulos moderados e nocivos de pressão, aplicados nas estruturas expostas da região lombar, mas não ao estímulo nocivo na fáscia toracolombar (TLF). Um exemplo de um neurônio convergente com entrada da TLF está representado na figura 10B. O neurônio respondeu ao estímulo inócuo e nocivo na pele e também ao estímulo moderado e nocivo na fáscia.

Figura 10



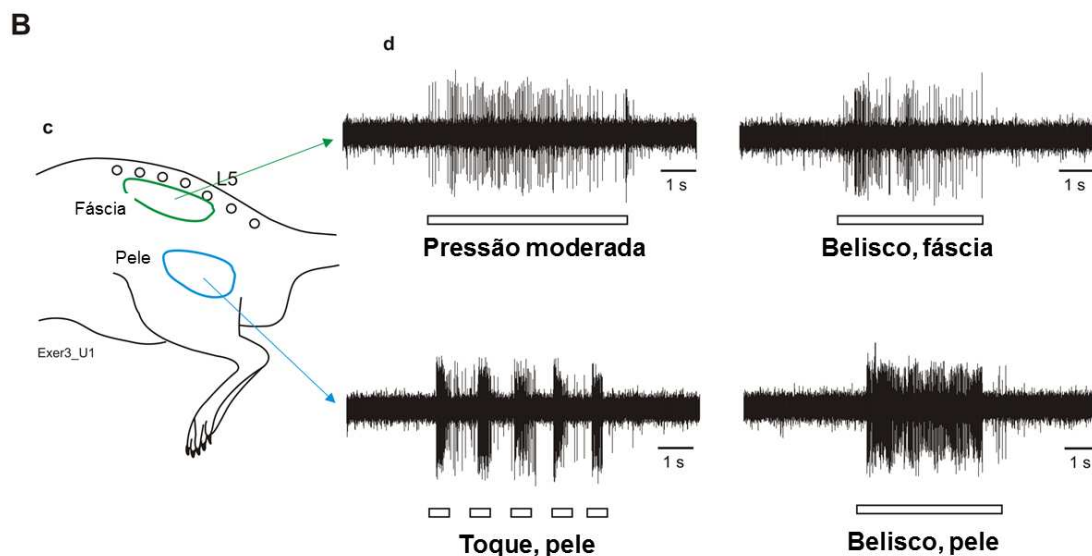


Figura 10. Neurônio do corno dorsal com fontes de entrada provindos de diferentes tipos de tecidos (neurônio convergente). (A) Neurônio convergente com campo receptivo no músculo lombar (área com linha vermelha) e pele (área com linha azul) (a). Área vermelha e azul no esboço do corpo do rato demonstram a localização e o tamanho aproximado dos campos receptivos (b). Respostas geradas pelo estímulo mecânico nos campos receptivos da pele estão à esquerda do esboço do corpo. Respostas geradas pela pressão moderada e nociva no músculo MF estão à direita do esboço. (B) Neurônio com campo receptivo na fáscia lombar (área com linha verde em “c”) e na pele (área com linha azul). (d) Respostas ao estímulo mecânico na fáscia (painel superior) e na pele (painel inferior).

Um exemplo de neurônio com fontes de entrada apenas de tecidos profundos, está demonstrado na figura 11. Houve uma resposta clara à pressão nociva aplicada ao decido profundo, mas não ao estímulo nocivo na pele que sobrepõem o campo receptivo.

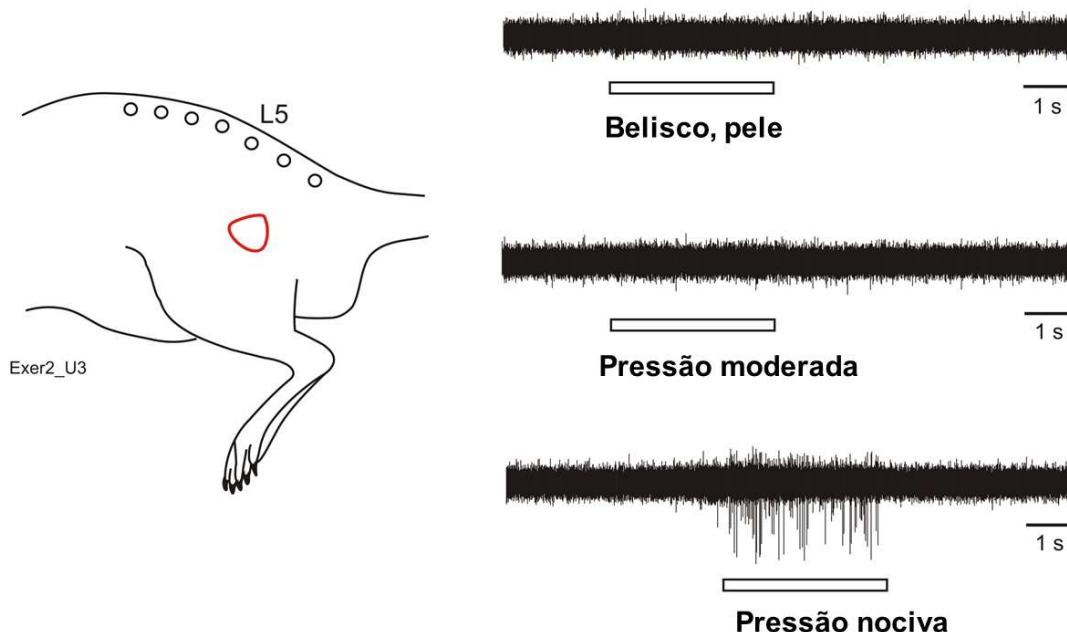
Figura 11

Figura 11. Neurônio excitado de tecidos somáticos profundos. Área vermelha no esboço do corpo do rato representa a localização e o tamanho aproximado do campo receptivo profundo. Registro do neurônio com *fontes de entrada* de tecidos profundos respondeu à pressão nociva aplicada aos tecidos profundos, mas não à estimulação da pele sobre o campo receptivo.

Neste estudo, também foi possível observar que a sensibilização dos neurônios do corno dorsal foi induzida pelas duas injeções de NGF no músculo MF e que o tratamento com exercício físico gerou um efeito dessensibilizador nesse processo (figura 12). A proporção dos neurônios com fontes de entrada de tecidos profundos, no grupo controle representou 50% do total de neurônios registrados (20/40), enquanto no grupo exercitado a proporção foi menor (25%, 10/40). A proporção de neurônios com fontes de entrada convergentes também foi maior no grupo controle (37.5%, 15/40) quando comparado ao grupo exercitado (15%, 6/40). Em contraste, a proporção dos neurônios com fontes de entrada da pele foi muito similar nos dois grupos de tratamento (controle: 75%, 30/40; exercício: 77.50%, 31/40). Neurônios com fontes de entrada provindos da TLF no grupo controle foram de 17.5% (7/40) e no grupo exercitado 10% (4/40). Neurônios que não foram possíveis de identificar os

campos receptivos com a estimulação mecânica (desconhecidos) representaram 10% em ambos os grupos de análise (4/40). O grupo exercitado demonstrou uma proporção significativamente menor de neurônios com fontes de entradas de tecidos profundos (figura 12, teste exato de Fisher, $P < 0.05$) e em neurônios convergentes (figura 12, teste exato de Fisher, $P < 0.05$).

Figure 12

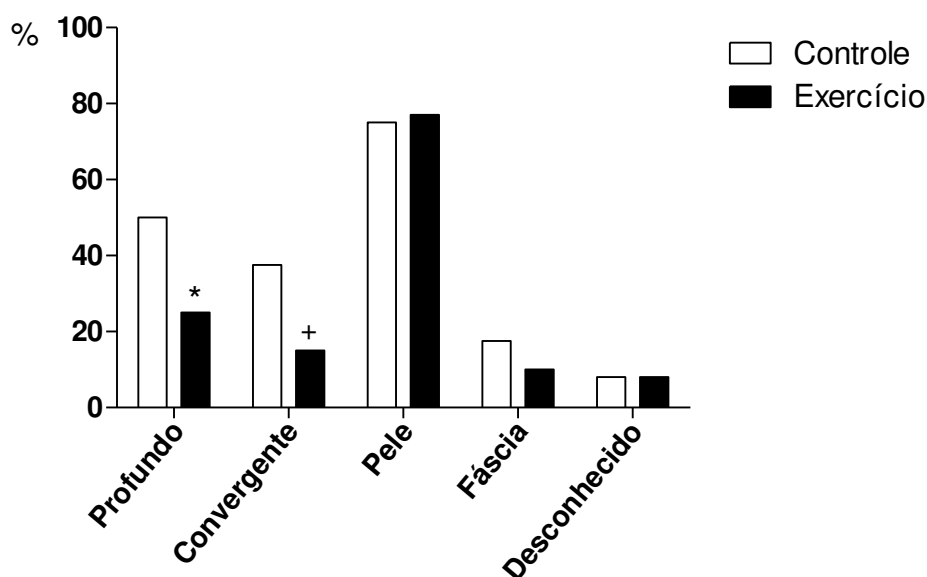


Figura 12. Proporção dos neurônios registrados no corno dorsal de acordo com a fonte de entrada. Profundo: neurônios com estímulos provindos de tecidos profundos como músculo e fásia; Convergente: neurônios com estímulos vindos de mais de um tipo de tecido; Pele: neurônios com fontes de entrada da pele; TLF: neurônios com estímulos da fásia toracolombar; Desconhecidos: neurônios que não responderam ao estímulo mecânico; Há uma diferença estatística entre o grupo controle e exercitado nos neurônios com estímulos de tecidos profundos, como mostra o símbolo “*” (profundo; controle: 50%, 20/40; exercício: 25%, 10/40; teste exato de Fisher, $P < 0.05$) e nos neurônios convergentes, como mostra o símbolo “+” (controle: 37.5%, 15/40; exercício: 15%, 6/40; teste exato de Fisher, $P < 0.05$).

Ainda, o tratamento com exercício foi capaz de diminuir a proporção de neurônios com campos receptivos profundos distantes da região lombar, onde foi feita a injeção (L5; figura 13 A e B). Campos receptivos profundos no

grupo controle foram majoritariamente localizados na região do calcanhar e da canela (figura 13B) enquanto no grupo de exercício os campos receptivos foram encontrados na coxa (figura 13B; para regiões do corpo veja figura 2C). A proporção de neurônios com fontes de entrada profundos, fora da região lombar foi significativamente diminuída no grupo exercitado (10%, 4/40) quando comparado ao grupo controle (32.5%, 13/40). Teste exato de Fisher demonstrou uma diferença significativa entre os dois grupos (Figure 13A, $P < 0.05$).

Figure 13

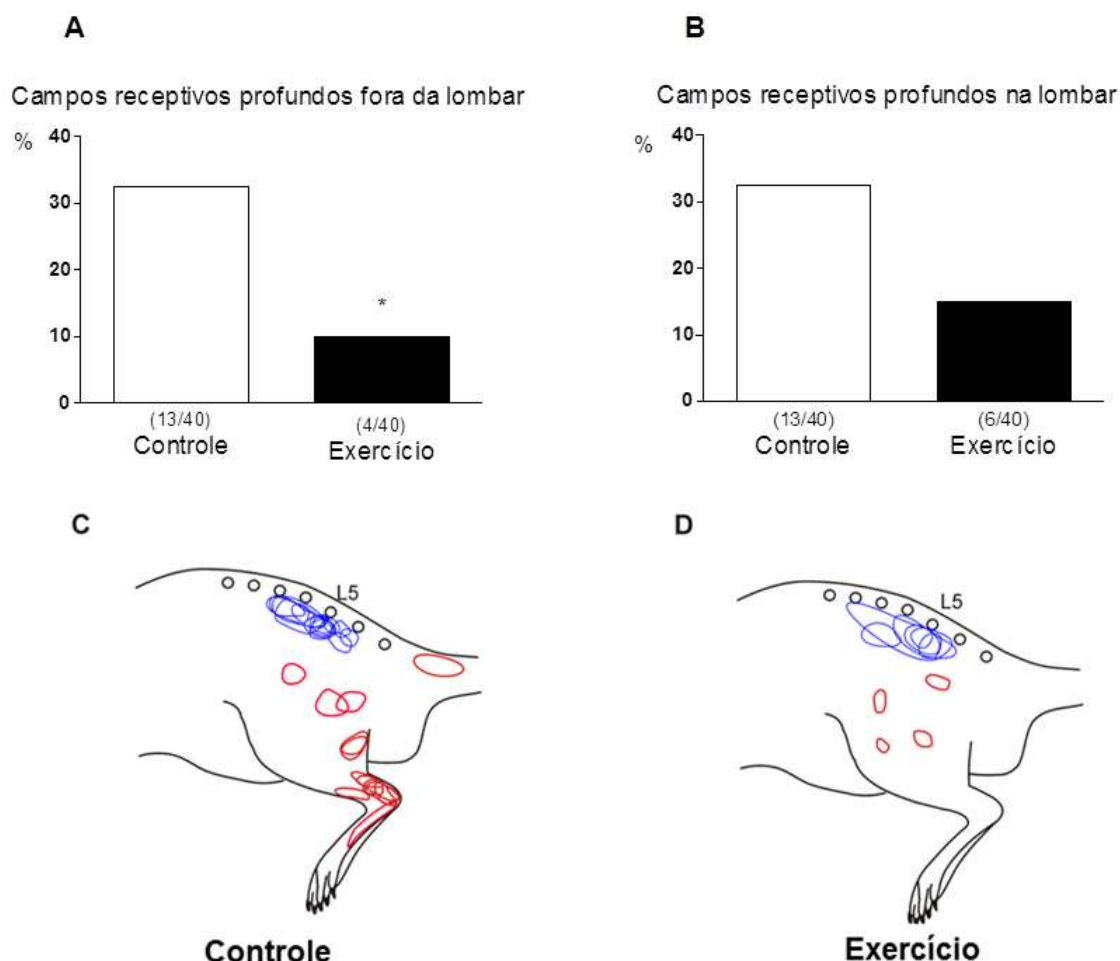


Figura 13. Neurônios com campos receptivos profundos, localizados fora da região lombar. (A) Proporção de neurônios com campos receptivos profundos fora da região lombar. No grupo controle 32.5% (13/40) dos neurônios tiveram campos receptivos profundos distantes da região da injeção (L5), no grupo exercitado foi 10% (4/40). O grupo exercitado demonstrou

uma diferença significativamente menor em relação ao grupo controle, como mostra o símbolo “**” (Teste exato de Fisher, $P < 0.05$). **(B)** Proporção de neurônios com campos receptivos profundos na região lombar. Grupo controle 32.5% (13/40); Grupo exercício 15% (6/40). Não houve diferença significativa entre o grupo controle e exercitado (Teste exato de Fisher, $P > 0.05$). **(C) e (D)** Área vermelha no esboço do corpo do animal representa o tamanho e a localização aproximada dos campos receptivos profundos for a da lombar no grupo controle (C) e exercitado (D). Áreas azuis no esboço do corpo representam os campos receptivos profundos localizados na região lombar. L5 = local da injeção de NGF.

7. DISCUSSÃO

7.1 Hipoalgesia induzida pelo exercício físico crônico em um modelo de hiperalgesia muscular inflamatória é mediado por receptores PPAR γ

7.1.2 Os efeitos do exercício físico crônico: a importância da prática regular para o controle da dor muscular

No presente estudo, os dados demonstraram que o exercício físico crônico induz hipoalgesia muscular dependente da ativação dos receptores PPAR γ . Além disso, demonstraram que esse processo envolve a modulação da citocina inflamatória CINC-1.

Muitos estudos têm demonstrado resultados positivos sobre prática regular de exercício físico como intervenção terapêutica nas condições dolorosas crônicas (KOLTYN, 2000; NEWCOMB et al., 2011; DETLOFF et al., 2014). Nossos dados confirmam essa evidência, uma vez que o treinamento crônico, tanto generalizado quanto individualizado, foi capaz de diminuir a intensidade da resposta hiperalgésica induzida pela carragenina no músculo gastrocnêmio de ratos. É importante destacar que o objetivo do presente estudo era avaliar agudamente apenas o pico da resposta hiperalgésica, que ocorre após três horas da administração do estímulo inflamatório e, por esse motivo, avaliações por períodos mais longos não foram realizados. Porém, treinamentos crônicos são capazes de gerar adaptações físicas de longa duração, dessa forma há a possibilidade de essa prevenção evitar a geração de uma condição dolorosa crônica (ANDERSEN et al., 2008; SLUKA et al., 2013; JONES et al., 2014)

Estudos também têm demonstrado que o exercício físico, realizado com diferentes protocolos, é capaz de modificar o limiar nociceptivo em humanos e em animais (NAUGLE et al., 2014, 2016; JONES et al., 2014; UMEDA et al., 2015). Nossos dados demonstraram que tanto o exercício individualizado quanto o generalizado modificaram o limiar nociceptivo basal dos animais durante algumas semanas de treinamento. Entretanto, considerando-se que, ao final do período de treinamento, os limiares nociceptivos se igualaram aos valores basais, podemos sugerir que essas

alterações não interferiram no resultado final dos comportamentos avaliados após o estímulo inflamatório.

Assim como a dor, os resultados orgânicos de um exercício físico também são multidimensionais e subjetivos (GARBER et al., 2011; UMEDA et al., 2016). Sabe-se que o exercício pode não só induzir diminuição das condições dolorosas como também aumentá-las agudamente (STAUD et al., 2001; SLUKA; RASMUSSEN, 2010). Esse processo muitas vezes está relacionado às condições dolorosas pré-existentes e repercute negativamente na adesão aos programas de exercício. Ainda, a descontinuidade do exercício também pode estar relacionada a outros fatores como: baixo suporte social, baixos níveis de atividade física no ambiente social e desenvolvimento de doenças psicológicas como depressão e ansiedade (STAUD et al., 2005; MURASE et al., 2010). Entendemos que os efeitos da prática saudável e regular do exercício físico vão além da modulação da dor e de vias inflamatórias relacionadas, uma vez que a melhora fisiológica se estende para todos os sistemas do organismo (GARBER et al., 2011). Por esses motivos, embora os nossos dados demonstrem que, agudamente, o treinamento generalizado e o individualizado tenham reduzido de maneira similar a hiperalgesia muscular mecânica, acreditamos ser de fundamental importância um acompanhamento profissional durante as atividades físicas. Esse planejamento individualizado, quando o objetivo é a prevenção ou redução da dor muscular, deve levar em consideração as individualidades biológicas de cada sujeito assim como as condições dolorosas pré-existentes (GARBER et al., 2011; SCARIOT et al., 2016).

Sabe-se que a eficiência da hipoalgesia induzida pelo exercício (HIE) é determinada tanto pela intensidade e duração, quanto pelo tipo de exercício (HOFFMAN et al., 2004; WONDERS; DRURY, 2011). Dessa forma, determinar a predominância metabólica energética durante a prática se torna importante para a prescrição correta do treinamento, uma vez que volumes e intensidades inapropriadas podem exceder a tolerância individual e agravar a condição dolorosa (MEEUS et al., 2010). Verificar o nível de treinabilidade antes, durante e após cada período, se torna um controle essencial para o reajuste de intensidade, visando adaptação física a nível individual. Da mesma

forma, estudos também trouxeram treinamentos sem melhora física significativa ao longo do tempo, ou até mesmo com queda na capacidade aeróbia de animais (BOTEZELLI et al., 2011; ARAUJO, DE et al., 2013). Tem sido demonstrada, em protocolos de exercício físico crônico, uma dificuldade metodológica na manutenção da qualidade física dos animais, que acaba por refletir nos testes de intensidades de exercício, como a MFEL. Fatores como: aumento da idade, mudança de peso ao longo do tempo e a forma de armazenagem nas gaiolas do biotério podem acarretar em redução do nível de treinamento dos animais (LAMBERTUCCI et al., 2007; SCARIOT et al., 2016). Sugere-se que, para um desenvolvimento eficiente da condição física, treinamentos periodizados sejam realizados (ARAUJO et al., 2010; ARAUJO, DE et al., 2012). Apesar disso, intensidades de treinamento entre 80-90% dos testes de limiares anaeróbios são classificadas como moderado e moderado-alto (GARBER et al., 2011) e têm sido demonstradas como adequadas para evitar danos fisiológicos ao organismo e causar adaptação física suficiente para a saúde (GARBER et al., 2011; ARAUJO et al., 2013; ARAUJO, DE et al., 2013). Com os protocolos utilizados em nosso estudo, foi possível induzir a hipoalgesia muscular assim como observar a estabilização da iMFEL, ao longo das 10 semanas de treinamento. Isso demonstra que ambos os protocolos foram capazes de manter a adaptação física dos animais. Além disso, os animais completaram grande parte do programa de treinamento proposto (generalizados: 91.25%; individualizados: 95.84%) e os parâmetros de carga (generalizados: 7300.16; individualizados: 7818.12) e volume total (generalizados: 1825.04; individualizados: 1916.79) estão aproximados.

Estudos têm demonstrado que situações agudas de estresse são capazes de gerar tanto hiperalgesia (ANDERSEN et al., 2008) quanto analgesia (GAAB et al., 2017). Sabe-se que o exercício físico agudo é uma situação estressante (CONTARTEZE et al., 2008), entretanto, a regularidade de um exercício realizado com intensidades abaixo do limiar anaeróbio induz adaptações fisiológicas e diminuição do estresse (ARAUJO, DE et al., 2013). Dessa forma, podemos sugerir que a hipoalgesia observada no presente estudo é decorrente dos benefícios do exercício físico e não do estresse.

7.1.3 Hipoalgesia induzida pelo exercício físico crônico é dependente de receptores PPAR γ

A adaptação física crônica proveniente de treinamento é caracterizada por alterações metabólicas no tecido muscular (BECK et al., 2015; SCARIOT et al., 2016). Estudos que utilizaram análise por marcação celular e expressão gênica apontam o aumento da expressão e da atividade dos receptores PPAR γ no músculo esquelético como resultado do exercício físico. Esse processo estaria envolvido com a melhora do sistema energético (CALVO et al., 2008; UGUCCIONI et al., 2010; BUENO JÚNIOR et al., 2012), com o controle de vias inflamatórias (KIM et al., 2017), e com a manutenção da saúde muscular. Considerando que os dados do presente estudo demonstraram que os receptores PPAR γ estão envolvidos na hipoalgesia induzida por exercício físico crônico, e que a análise qualitativa das lâminas de imunofluorescência sugere maior marcação do anticorpo anti-PPAR γ nos grupos treinados em relação aos sedentários, podemos sugerir que o exercício aumentou a expressão dos receptores PPAR γ e que o possível aumento da ativação dos mesmos, por ligantes endógenos, modulou a inflamação relacionada à hiperalgesia muscular. Esses dados são suportados por evidências de que a ativação dos receptores PPAR γ induz importante efeito hipoalgésico em diferentes modelos experimentais (CUZZOCREA et al., 2002; NAPIMOGA et al., 2008; CLEMENTE-NAPIMOGA et al., 2012). Nesse sentido, torna-se necessário a avaliação da atividade do receptor PPAR γ em modelos de dor muscular, tendo o exercício físico como estratégia de prevenção e/ou tratamento, a fim de explorar as vias inflamatórias e anti-inflamatórias relacionadas à indução da hipoalgesia por exercício físico.

É importante salientar que, como o antagonista seletivo de receptores PPAR γ reverteu a hipoalgesia induzida pelo exercício quando administrado tanto no gastrocnêmio ipsilateral à carragenina quanto no contralateral, não podemos afirmar que apenas receptores PPAR γ periféricos estejam envolvidos nesse processo. Sendo assim, a hipoalgesia induzida pelo exercício pode ter ocorrido com ativação de receptores PPAR γ periféricos, localizados especificamente em células do sistema imune (RAMYA KAPADIA, JAE-HYUK YI, 2008; HASEGAWA-MORIYAMA et al., 2013) ou centrais,

localizados em regiões do córtex e células da glia (COLLINO et al., 2006; WARDEN et al., 2016).

O mecanismo pelo qual os receptores PPAR γ participam da hipoalgesia aguda induzida pelo exercício pode envolver inúmeras vias (HASEGAWA-MORIYAMA et al., 2013; CASTELLANI et al., 2014; CROASDELL et al., 2015; OKINE et al., 2016). No presente estudo, avaliamos seu envolvimento via modulação de citocinas pró e anti-inflamatórias (RAMYA KAPADIA, JAE-HYUK YI, 2008). Os resultados demonstraram que, pelo menos agudamente, os receptores PPAR γ modulam a citocina pró- inflamatória CINC-1 induzida pela carragenina, sem afetar outras citocinas pró-inflamatórias como TNF- α e IL-1 β ou citocinas anti-inflamatórias, como a IL-10. É importante destacar que a CINC-1 é uma citocina análoga à IL-8, vinda das células do sistema imune e está envolvida com a via de sinalização inflamatória que resulta na produção e liberação de aminas simpatomiméticas (CUNHA et al., 1991, 1992). Essas, por sua vez, são mediadores inflamatórios finais que possuem a habilidade de sensibilizar diretamente os nociceptores aferentes primários (GOLD et al., 1996; FERRARI et al., 2010). Portanto, a relação do PPAR γ controlando a concentração de CINC-1, é possível, uma vez que ambos estão envolvidos com células do sistema imune.

7.2 Exercício físico de curta duração diminui sensibilidade neuronal no processo de cronificação da dor em um modelo de dor muscular lombar

7.2.1 Hiperálgesia mecânica de curta duração induzida por injeções de NGF não é prevenida pelo exercício físico

O uso do NGF como agente nociceptivo é conhecido como sendo associado com a indução de uma hiperálgesia de longa duração, também denominado *priming* (STAUD et al., 2005; HOHEISEL et al., 2007; NEWCOMB et al., 2011). No modelo de dor muscular lombar induzida por duas injeções de NGF, sabe-se que dois dias após a primeira injeção há o desenvolvimento da hiperálgesia de curta duração, representada pela queda do PPT do animal, que se resolve em cinco dias após a injeção. Então, com a segunda injeção no dia

5, o PPT decai novamente e permanece assim pelos próximos oito dias, representando uma hiperalgesia de longa duração (HOHEISEL et al., 2013). Os resultados desse estudo confirmaram que o insulto nociceptivo induzido pela primeira injeção de NGF causa a hiperalgesia de curta duração dois dias após e é resolvida em 5 dias. Estudos semelhantes demonstraram esse efeito após injeções de NGF (HOHEISEL et al., 2005, 2007, 2013). Nossos resultados demonstraram que o exercício alterou a dinâmica dessas respostas dolorosas, ou seja, não houve diferença entre animais tratados com exercício e animais controles no dia 2 assim como no dia 5, antes da segunda administração de NGF. Situações como a não alteração do estado de dor ou o agravamento, foram demonstradas em outros estudos (STAUD et al., 2005; SLUKA; RASMUSSEN, 2010). Sugerimos que, para esse modelo de dor muscular lombar, um novo protocolo deva ser testado com objetivo de verificarmos se é possível que o exercício altere a resposta hiperalgésica induzida pelo primeiro insulto nociceptivo. Além disso, torna-se necessária a avaliação do efeito do exercício no desenvolvimento da hiperalgesia de longa duração, a qual é induzida pela segunda injeção de NGF.

7.2.2 Redução da sensibilidade de neurônios do corno dorsal e reorganização dos campos receptivos induzidos pelo exercício

Estudos prévios sobre sensibilização neuronal em diferentes modelos de dor muscular e estresse demonstram um aumento na proporção de neurônios recebendo aferências (*inputs*) de tecidos profundos (músculo e fáscia) e na proporção de neurônios com aferências convergentes, em animais tratados com substâncias nociceptivas ou submetidos a condições de estresse (HOHEISEL et al., 2007, 2011, 2013; HOHEISEL; MENSE, 2015; HOHEISEL; VOGT; et al., 2015; HOHEISEL; ROSNER; et al., 2015). É sabido que neste modelo animal de hiperalgesia muscular, a primeira injeção de NGF gera uma sensibilização neuronal de curta duração, de dois dias, e um estado latente até o quinto dia (HOHEISEL et al., 2013). Com isso, a segunda injeção de NGF, dada nesse estado de sensibilização prévia, gera uma hipersensibilidade neuronal, que é mais forte e mais duradoura do que a primeira, além de ser

acompanhada pelo aumento da proporção de neurônios com aferências de diferentes tecidos (neurônios convergentes) e neurônios com aferências de tecidos profundos, mudanças significativas na atividade espontânea dos neurônios e pela reorganização dos campos receptivos para regiões distantes dos músculos lombares (STECCO et al., 2011; HOHEISEL et al., 2013; SCHILDER et al., 2014). Sabe-se ainda que a elevação da proporção de neurônios com aferências de tecidos profundos indica o aumento de conexões sinápticas no corno dorsal com fibras aferentes oriundas de músculos e fáscias, uma vez que o NGF, em determinadas concentrações, é capaz de sensibilizar fibras aferentes de condução lenta (HOHEISEL et al., 2007, 2011, 2013; MURASE et al., 2010). Além disso, o aumento de neurônios convergentes, indica que as injeções de NGF induzem alterações centrais (HOHEISEL et al., 2007), formando novos campos receptivos para um mesmo neurônio, principalmente pela ativação de conexões sinápticas silenciosas ou “adormecidas” que pode estar relacionadas às condições dolorosas de difícil localização (HOHEISEL et al., 2013). Essa sensibilização central pode ser devido às mudanças em sistemas endógenos de controle da dor, causadas por mudanças plásticas do sistema nervoso, como por exemplo: a ativação de receptores NMDA, via do AMPc e PKA, aumentando a transmissão nervosa; modificações de neurônios associados a estímulos nocivos na medula rostro ventromedial; além de alterações das vias periféricas como os nociceptores e fibras aferentes, incluindo receptores de neurotrofinas. Esses processos podem estar relacionados ao desenvolvimento de condições dolorosas generalizadas (DESANTANA; SLUKA, 2008; STAUD, 2011). Portanto, os resultados de que o exercício de curta duração foi capaz de reduzir a proporção de neurônios com aferências convergentes e de tecidos profundos assim como o número de campos receptivos profundos, localizados fora da região lombar, sugerem que o exercício físico foi capaz de reduzir a ativação de sinapses adormecidas ou silenciosas, causadas pela injeção de NGF no músculo multifidus. Esse processo sugere a indução de uma “neuroproteção” relacionado à prevenção da dor crônica (BOBINSKI et al., 2011, 2016).

Não podemos afirmar por quais mecanismos o exercício foi capaz de prevenir novas conexões sinápticas de neurônios com aferências de tecidos

musculares. A hipótese é de que houve modulação das vias envolvidas na cronificação da dor. Têm sido demonstrado o potencial efeito do exercício como modulador das funções morfológicas de neurônios centrais relacionados às condições dolorosas (STAGG et al., 2011; BOBINSKI et al., 2011; SLUKA et al., 2013). Esse processo parece ocorrer via sistema opióide (STAGG et al., 2011), canabinóide (GALDINO et al., 2014), adrenérgico (SOUZA, DE et al., 2013) e/ou serotoninérgico (BOBINSKI et al., 2016). Além disso, sabe-se que células da glia são ativadas no corno dorsal após insultos nociceptivos (CHACUR et al., 2009) e que a administração de inibidores da suas funções previnem o desenvolvimento da hiperalgesia e hiperexcitabilidade neuronal nesse modelo de dor lombar (ZHANG et al., 2017), indicando que esse processo também pode estar envolvido na modulação induzida pelo exercício.

7.2.3 Atividade espontânea dos neurônios sensibilizados foi diminuída após o exercício físico de curta duração

Estudos prévios com o modelo de dor lombar induzida pelo NGF demonstraram um aumento na proporção de neurônios com atividade espontânea, bem como a média da atividade espontânea desses neurônios (HOHEISEL et al., 2013). Sugere-se que a indução de uma forte atividade espontânea em neurônios do sistema nervoso central esteja relacionada com a geração de dor espontânea (situação onde a dor é gerada sem que haja estímulo intencional) (GEHA et al., 2007; BENNETT, 2012). Um possível mecanismo para isso seria o declínio de sistemas endógenos de controle da dor, como por exemplo, a modulação condicionada da dor (*Conditioned Pain Modulation*, CPM) e outras funções cognitivas (ISNARD et al., 2011; ALBU et al., 2015). Estudos recentes demonstraram que a ativação de receptores opióides induz diminuição da atividade espontânea em neurônios centrais (SUZUKI; DICKENSON, 2006; KAMI et al., 2017). Além disso, tem sido demonstrado que exercícios agudos ou de curta duração têm a capacidade de aumentar a liberação de opióides endógenos no SNC (STAGG et al., 2011; NAUGLE et al., 2013; SLUKA et al., 2013; KAMI et al., 2017). Dessa forma, a diminuição da atividade espontânea após o exercício, no presente estudo, pode

indicar a ativação do sistema opióide endógeno em áreas do SNC relacionadas ao controle da dor (BEMENT; SLUKA, 2005; BOBINSKI et al., 2011; SLUKA et al., 2013).

8. CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo sugerem que o exercício físico crônico e de curta duração, em modelos experimentais de hiperalgesia muscular, são eficientes no controle da dor muscular. Esse processo parece ocorrer tanto pela modulação das vias inflamatórias quanto pela ação direta na sinalização neuronal.

Demonstramos, pela primeira vez, que a hipoalgesia muscular induzida pelo exercício físico crônico é modulada pela ativação dos receptores PPAR γ . Esses receptores, por sua vez, modulam a citocina inflamatória CINC-1, de modo a contribuir com a redução da dor muscular. Esses resultados sugerem que a prática regular de exercícios físicos, pelo menos em indivíduos saudáveis, age de forma protetora frente a estímulos inflamatórios, deixando o organismo preparado para responder a insultos nociceptivos através da via dos receptores PPAR γ .

Demonstramos também que exercício físico de curta duração e de baixa intensidade é capaz de modular a sensibilização dos neurônios no corno dorsal da medula, processo que está diretamente relacionado à dor lombar crônica. Esses resultados, mais uma vez, sugerem um importante efeito protetor em vias responsáveis pela cronificação da dor muscular.

Em suma, o presente estudo aponta que a prática regular de exercícios físicos, tanto em indivíduos saudáveis quanto naqueles com condições dolorosas crônicas, é uma estratégia terapêutica bastante eficiente para o controle da dor muscular e manutenção da qualidade de vida.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBU, S.; AVILA-MARTIN, G.; TAYLOR, J. Deficient conditioned pain modulation after spinal cord injury correlates with clinical spontaneous pain measures. *Pain*, v. 156, p. 260–272, 2015.

ALMEIDA, C.; DEMAMAN, A.; KUSUDA, R.; et al. Exercise therapy normalizes BDNF upregulation and glial hyperactivity in a mouse model of neuropathic pain. *Pain*, v. 156, n. 3, p. 504–13, 2015. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25687543>>. Acesso em: 21/2/2017.

AMANDUSSON, Å.; BLOMQVIST, A. Estrogenic influences in pain processing. *Frontiers in neuroendocrinology*, v. 34, n. 4, p. 329–49, 2013. Elsevier Inc. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23817054>>. Acesso em: 21/2/2017.

ANDERSEN, J. H.; HAAHR, J. P.; FROST, P. Risk factors for more severe regional musculoskeletal symptoms: a two-year prospective study of a general working population. *Arthritis and rheumatism*, v. 56, n. 4, p. 1355–64, 2007. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17393441>>. Acesso em: 21/2/2017.

ANDERSEN, L. L.; KJAER, M.; SØGAARD, K.; et al. Effect of two contrasting types of physical exercise on chronic neck muscle pain. *Arthritis and rheumatism*, v. 59, n. 1, p. 84–91, 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18163419>>. Acesso em: 24/9/2013.

ARAUJO, G. G. DE; ALICE, M.; MELLO, R. DE; APLICADA, L. D. F. Padronização de um Protocolo Experimental de Treinamento Periodizado em Natação Utilizando Ratos Wistar. *Rev Bras Med Esporte*, v. 16, p. 51–56, 2010.

ARAUJO, G. G. DE; MANCHADO-GOBATTO, F.; PAPOTI, M.; MELLO, M. A. R. DE; GOBATTO, C. A. Monitoring chronic physical stress using biomarkers , performance protocols and mathematical functions to identify physiological adaptations in rats. *Laboratory Animals*, v. 47, p. 36–42, 2013.

ARAUJO, G. G. DE; PAPOTI, M.; DELBIN, M. A.; ZANESCO, A.; GOBATTO, C. A. Physiological adaptations during endurance training below anaerobic

threshold in rats. *European journal of applied physiology*, v. 113, n. 7, p. 1859–70, 2013. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23456272>>. Acesso em: 18/8/2016.

ARAUJO, G. G. DE; PAPOTI, M.; REIS, I. G. M. DOS; MELLO, M. A. R. DE; GOBATTO, C. A. Physiological responses during linear periodized training in rats. *European journal of applied physiology*, v. 112, n. 3, p. 839–52, 2012. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21681481>>. Acesso em: 15/4/2015.

ARIDA, R. M.; SILVA, S. G. DA; ALMEIDA, A. A. DE; et al. Differential effects of exercise on brain opioid receptor binding and activation in rats. *Journal of Neurochemistry*, v. 132, n. 2, p. 206–217, 2015.

BALAGUÉ, F.; MANNION, A. F.; PELLISÉ, F.; CEDRASCHI, C. Non-specific low back pain. *Lancet (London, England)*, v. 379, n. 9814, p. 482–91, 2012. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21982256>>. Acesso em: 5/11/2016.

BATISTA, M. L.; ROSA, J. C.; LOPES, R. D.; et al. Exercise training changes IL-10/TNF- α ratio in the skeletal muscle of post-MI rats. *Cytokine*, v. 49, n. 1, p. 102–8, 2010. Elsevier Ltd. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19948415>>. Acesso em: 23/9/2015.

BECK, W. R.; BOTEZELLI, J. D.; PAULI, J. R.; ROPELLE, E. R.; GOBATTO, C. A. Melatonin Has An Ergogenic Effect But Does Not Prevent Inflammation and Damage In Exhaustive Exercise. *Scientific reports*, v. 5, p. 18065, 2015. Nature Publishing Group. Disponível em: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4680866&tool=pmc_entrez&rendertype=abstract>. Acesso em: 21/2/2017.

BEMENT, M. K. H.; SLUKA, K. A. Low-intensity exercise reverses chronic muscle pain in the rat in a naloxone-dependent manner. *Archives of physical medicine and rehabilitation*, v. 86, n. 9, p. 1736–40, 2005. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16181935>>. Acesso em: 11/11/2014.

BENNETT, G. J. What Is Spontaneous Pain and Who Has It? *The Journal of*

Pain, v. 13, n. 10, p. 921–929, 2012. Elsevier Ltd. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jpain.2012.05.008>>. .

BERGER, J.; MOLLER, D. E. THE MECHANISMS OF ACTION OF PPARs. *Annu. Rev. Med.*, v. 53, p. 409–435, 2002.

BILLAT, L.; SIRVENT, P.; PY, G.; KORALSZTEIN, J.; MERCIER, J. The Concept of Maximal Lactate Steady State A Bridge Between Biochemistry , Physiology and Sports Medicine, v. 33, n. 6, p. 407–426, 2003.

BOBINSKI, F.; MARTINS, D. F.; BRATTI, T.; et al. Neuroprotective and neuroregenerative effects of low-intensity aerobic exercise on sciatic nerve crush injury in mice. *Neuroscience*, v. 194, p. 337–48, 2011. Elsevier Inc. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21864654>>. Acesso em: 21/2/2017.

BOBINSKI, F.; POLI, A.; GOMES, R.; et al. Role of brainstem serotonin in analgesia produced by low- intensity exercise on neuropathic pain following sciatic nerve injury in mice. *Pain*, v. 156, n. 12, p. 2595–2606, 2016.

BOELSTERLI, U. A. Diclofenac-induced liver injury : a paradigm of idiosyncratic drug toxicity. *Toxicology and Applied Pharmacology*, v. 192, p. 307–322, 2003.

BOTEZELLI, J. D.; CAMBRI, L. T.; GHEZZI, A. C.; et al. Different exercise protocols improve metabolic syndrome markers, tissue triglycerides content and antioxidant status in rats. *Diabetology & metabolic syndrome*, v. 3, n. 1, p. 35, 2011. BioMed Central Ltd. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3296599&tool=pmc&rendertype=abstract>>. Acesso em: 15/4/2015.

BOUHLEL, M. A.; BROZEK, J.; DERUDAS, B.; et al. Unlike PPARgamma, PPARalpha or PPARbeta/delta activation does not promote human monocyte differentiation toward alternative macrophages. *Biochemical and biophysical research communications*, v. 386, n. 3, p. 459–62, 2009. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19527689>>. Acesso em: 21/2/2017.

BOUHLEL, M. A.; DERUDAS, B.; RIGAMONTI, E.; et al. PPARgamma activation primes human monocytes into alternative M2 macrophages with anti-

inflammatory properties. *Cell metabolism*, v. 6, n. 2, p. 137–43, 2007. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17681149>>. Acesso em: 21/2/2017.

BREIVIK, H.; COLLETT, B.; VENTAFRIDDA, V.; COHEN, R.; GALLACHER, D. Survey of chronic pain in Europe: prevalence, impact on daily life, and treatment. *European journal of pain (London, England)*, v. 10, n. 4, p. 287–333, 2006. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16095934>>. Acesso em: 1/12/2016.

BUENO JÚNIOR, C. R.; PANTALEÃO, L. C.; VOLTARELLI, V. A; et al. Combined effect of AMPK/PPAR agonists and exercise training in mdx mice functional performance. *PloS one*, v. 7, n. 9, p. e45699, 2012. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3448675&tool=pmc-entrez&rendertype=abstract>>. Acesso em: 16/6/2015.

CALVO, J. A.; DANIELS, T. G.; WANG, X.; et al. Muscle-specific expression of PPARgamma coactivator-1alpha improves exercise performance and increases peak oxygen uptake. **Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)**, v. 104, n. 5, p. 1304–1312, 2008. Disponível em: <<http://jap.physiology.org.proxy.queensu.ca/content/104/5/1304.short>>. .

CASTELLANI, L.; ROOT-MCCAIG, J.; FRENDON-CUMBO, S.; BEAUDOIN, M.-S.; WRIGHT, D. C. Exercise training protects against an acute inflammatory insult in mouse epididymal adipose tissue. *Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, v. 116, n. 10, p. 1272–80, 2014. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24674860>>. Acesso em: 28/5/2014.

CHACUR, M.; LAMBERTZ, D.; HOHEISEL, U.; MENSE, S. Role of spinal microglia in myositis-induced central sensitisation: An immunohistochemical and behavioural study in rats. *European Journal of Pain*, v. 13, n. 9, p. 915–923, 2009. European Federation of Chapters of the International Association for the Study of Pain. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ejpain.2008.11.008>>.

CHENG, J.; CLINIC, C. Swim Therapy Reduces Mechanical Allodynia and Thermal Hyperalgesia Induced by Chronic. *Pain Medicine*, p. 516–525, 2013.

CHINETTI-GBAGUIDI, G.; COPIN, C.; DERUDAS, B.; et al. Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ Induces the Expression of Tissue Factor Pathway Inhibitor-1 (TFPI-1) in Human Macrophages. *PPAR research*, v. 2016, p. 2756781, 2016. Hindawi Publishing Corporation. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=5223051&tool=pmc-entrez&rendertype=abstract>>. Acesso em: 21/2/2017.

CHOPADE, A. R.; SAYYAD, F. J.; NAIKWADE, N. S. Pharmacological characterization of carrageenan induced heat muscle hyperalgesia in rats using non-selective, preferential and selective COX-2 inhibitors. *Pharmacological reports: PR*, v. 66, n. 3, p. 353–62, 2014. Institute of Pharmacology, Polish Academy of Sciences. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24905509>>. Acesso em: 18/3/2015.

CIMINI, A; BENEDETTI, E.; CRISTIANO, L.; et al. Expression of peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) and retinoic acid receptors (RXRs) in rat cortical neurons. *Neuroscience*, v. 130, n. 2, p. 325–37, 2005. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15664689>>. Acesso em: 30/11/2015.

CIMMINO, M. A; FERRONE, C.; CUTOLO, M. Epidemiology of chronic musculoskeletal pain. *Best practice & research. Clinical rheumatology*, v. 25, n. 2, p. 173–83, 2011. Elsevier Ltd. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22094194>>. Acesso em: 18/11/2016.

CLEMENTE-NAPIMOGA, J. T.; MOREIRA, J. A; GRILLO, R.; et al. 15d-PGJ2-loaded in nanocapsules enhance the antinociceptive properties into rat temporomandibular hypernociception. *Life sciences*, v. 90, n. 23–24, p. 944–9, 2012. Elsevier Inc. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22564409>>. Acesso em: 12/1/2016.

COLLINO, M.; ARAGNO, M.; MASTROCOLA, R.; et al. Modulation of the oxidative stress and inflammatory response by PPAR-gamma agonists in the hippocampus of rats exposed to cerebral ischemia/reperfusion. *European journal of pharmacology*, v. 530, n. 1–2, p. 70–80, 2006. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16386242>>. Acesso em: 21/2/2017.

CONTARTEZE, R. V. L.; MANCHADO, F. D. B.; GOBATTO, C. A.; MELLO, M.

A. R. DE. Stress biomarkers in rats submitted to swimming and treadmill running exercises. **Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology**, v. 151, n. 3, p. 415–422, 2008.

CROASDELL, A.; DUFFNEY, P. F.; KIM, N.; et al. PPAR γ and the Innate Immune System Mediate the Resolution of Inflammation. *PPAR Research*, v. 2015, n. Figure 1, 2015. Hindawi Publishing Corporation.

CUNARD, R.; RICOTE, M.; DICAMPLI, D.; et al. Regulation of Cytokine Expression by Ligands of Peroxisome Proliferator Activated Receptors. *The Journal of Immunology*, v. 168, n. 6, p. 2795–2802, 2002. Disponível em: <<http://www.jimmunol.org/cgi/doi/10.4049/jimmunol.168.6.2795>>. Acesso em: 21/2/2017.

CUNHA, F. Q.; LORENZETTI, B. B.; POOLE, S.; FERREIRA, S. H. Interleukin-8 mediator of sympathetic pain. *Br. J. Pharmacol.*, v. 767, p. 765–767, 1991.

CUNHA, F. Q.; POOLE, S.; LORENZETTI, B. B.; FERREIRA, S. H. The pivotal role of tumour necrosis factor α in the development of inflammatory hyperalgesia. *Br. J. Pharmacol.*, p. 660–664, 1992.

CUNHA, F. Q.; SELKIRK, S.; LORENZETTI, B. B. Cytokine-mediated inflammatory hyperalgesia limited by. *Brish Journal of Pharmacology*, v. 6, p. 684–688, 1995.

CUNHA, R. R.; CUNHA, V. N. DE C.; SEGUNDO, P. R.; et al. Determination of the lactate threshold and maximal blood lactate steady state intensity in aged rats. *Cell biochemistry and function*, v. 27, n. 7, p. 351–357, 2009.

CUNHA, T. M.; VERRI, W. A.; SCHIVO, I. R.; et al. Crucial role of neutrophils in the development of mechanical inflammatory hypernociception. *Journal of leukocyte biology*, v. 83, n. 4, p. 824–32, 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18203872>>. Acesso em: 18/3/2015.

CUZZOCREA, S.; WAYMAN, N. S.; MAZZON, E.; et al. The Cyclopentenone Prostaglandin 15-Deoxy- $\Delta^{12,14}$ -Prostaglandin J₂ Attenuates the Development of Acute and Chronic Inflammation. *Molecular Pharmacology*, v.

61, n. 5, p. 997–1007, 2002.

DEMARZO, M. M. P.; MARTINS, L. V.; FERNANDES, C. R.; et al. Exercise reduces inflammation and cell proliferation in rat colon carcinogenesis. *Medicine and science in sports and exercise*, v. 40, n. 4, p. 618–21, 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18317386>>. Acesso em: 21/2/2017.

DESANTANA, J. M.; SLUKA, K. A. Central Mechanisms in the Maintenance of Chronic Widespread Non inflammatory Muscle Pain. *Current Pain and Headache Reports*, v. 12, n. 6, p. 338–343, 2008.

DETLOFF, M. R.; SMITH, E. J.; QUIROS MOLINA, D.; GANZER, P. D.; HOULÉ, J. D. Acute exercise prevents the development of neuropathic pain and the sprouting of non-peptidergic (GDNF- and artemin-responsive) c-fibers after spinal cord injury. *Experimental neurology*, v. 255, p. 38–48, 2014. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4036591&tool=pmc&rendertype=abstract>>. Acesso em: 21/2/2017.

DINA, O. A.; GREEN, P. G.; LEVINE, J. D. Role of IL-6 in Chronic Muscle Hyperalgesic Priming Olayinka. *Neuroscience*, v. 152, n. 2, p. 521–525, 2008.

DUREJA, G. P.; JAIN, P. N.; SHETTY, N.; et al. Prevalence of chronic pain, impact on daily life, and treatment practices in India. *Pain practice: the official journal of World Institute of Pain*, v. 14, n. 2, p. E51-62, 2014. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24304963>>. Acesso em: 21/2/2017.

EDWARDS, I. R.; ARONSON, J. K. Adverse drug reactions Adverse drug reactions: definitions, diagnosis, and management. *THE LANCET*, v. 356, p. 1255–1259, 2000.

FERRARI, L. F.; BOGEN, O.; LEVINE, J. D. Nociceptor subpopulations involved in hyperalgesic priming. *Neuroscience*, v. 165, n. 3, p. 896–901, 2010. Elsevier Inc. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2815163&tool=pmc&rendertype=abstract>>. Acesso em: 21/2/2017.

FRAZZITTA, G.; BALBI, P.; MAESTRI, R.; et al. The beneficial role of intensive

exercise on Parkinson disease progression. American journal of physical medicine & rehabilitation, v. 92, n. 6, p. 523–32, 2013. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23552330>>. Acesso em: 21/2/2017.

GAAB, J.; JIMÉNEZ, J.; VONESCHEN, L.; et al. Psychosocial Stress-Induced Analgesia: An Examination of Effects on Heat Pain Threshold and Tolerance and of Neuroendocrine Mediation. **Neuropsychobiology**, v. 74, n. 2, p. 87–95, 2017.

GALDINO, G.; ROMERO, T. R. L.; SILVA, J. F. P.; et al. The endocannabinoid system mediates aerobic exercise-induced antinociception in rats. Neuropharmacology, v. 77, p. 313–24, 2014. Elsevier Ltd. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24148812>>. Acesso em: 21/2/2017.

GARBER, C. E.; BLISSMER, B.; DESCHENES, M. R.; et al. American College of Sports Medicine position stand. Quantity and quality of exercise for developing and maintaining cardiorespiratory, musculoskeletal, and neuromotor fitness in apparently healthy adults: guidance for prescribing exercise. Medicine and science in sports and exercise, v. 43, n. 7, p. 1334–59, 2011. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21694556>>. Acesso em: 12/9/2016.

GEHA, P. Y.; BALIKI, M. N.; CHIALVO, D. R.; et al. Brain activity for spontaneous pain of postherpetic neuralgia and its modulation by lidocaine patch therapy. Pain, v. 128, p. 88–100, 2007.

GENG, T.; LI, P.; OKUTSU, M.; et al. PGC-1 plays a functional role in exercise-induced mitochondrial biogenesis and angiogenesis but not fiber-type transformation in mouse skeletal muscle. AJP: Cell Physiology, v. 298, n. 3, p. C572–C579, 2010. Disponível em: <<http://ajpcell.physiology.org/cgi/doi/10.1152/ajpcell.00481.2009>>. .

GLEESON, M.; BISHOP, N. C.; STENSEL, D. J.; et al. The anti-inflammatory effects of exercise: mechanisms and implications for the prevention and treatment of disease. Nature reviews. Immunology, v. 11, n. 9, p. 607–15, 2011. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21818123>>. Acesso em: 24/10/2014.

GOBATTO, C. A.; MELLO, M. A. R. DE; SIBUYA, C. Y.; et al. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. *Comparative Biochemistry and Physiology*, v. 130, n. 1, p. 21–27, 2001. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1095643301003622>>.

Acesso em: 28/3/2015.

GOKCE, N.; VITA, J. A.; BADER, D. S.; et al. Effect of Exercise on Upper and Lower Extremity Endothelial Function in Patients With Coronary Artery Disease. *Am J Cardiol*, v. 90, n. 2, p. 15–18, 2002.

GOLD, M. S.; SHUSTER, M. J.; LEVINE, J. D. Role of a Ca^{2+} -dependent slow afterhyperpolarization in prostaglandin E₂-induced sensitization of cultured rat sensory neurons. *Neuroscience Letters*, v. 205, n. 3, p. 161–164, 1996.

GREGORY, N. S.; HARRIS, A. L.; ROBINSON, C. R.; et al. An overview of animal models of pain: disease models and outcome measures. *The journal of pain : official journal of the American Pain Society*, v. 14, n. 11, p. 1255–69, 2013. Elsevier Ltd. Disponível em: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3818391&tool=pmc_entrez&rendertype=abstract>. Acesso em: 21/2/2017.

GREGORY, N. S.; WHITLEY, P. E.; SLUKA, K. A. Effect of Intramuscular Protons, Lactate, and ATP on Muscle Hyperalgesia in Rats. *PloS one*, v. 10, n. 9, p. e0138576, 2015. Public Library of Science. Disponível em: <<http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0138576>>. Acesso em: 19/9/2015.

HASEGAWA-MORIYAMA, M.; KURIMOTO, T.; NAKAMA, M.; et al. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma agonist rosiglitazone attenuates inflammatory pain through the induction of heme oxygenase-1 in macrophages. *Pain*, v. 154, n. 8, p. 1402–12, 2013. International Association for the Study of Pain. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23707273>>. Acesso em: 4/4/2016.

HAYASHI, K.; SHIOZAWA, S.; OZAKI, N.; MIZUMURA, K.; GRAVEN-NIELSEN, T. Repeated intramuscular injections of nerve growth factor induced progressive muscle hyperalgesia, facilitated temporal summation, and

expanded pain areas. *Pain*, v. 154, n. 11, p. 2344–52, 2013. International Association for the Study of Pain. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23867729>>. Acesso em: 21/2/2017.

HENDRICH, J.; ALVAREZ, P.; JOSEPH, E. K.; et al. Electrophysiological correlates of hyperalgesic priming in vitro and in vivo. *Pain*, v. 154, n. 10, p. 2207–15, 2013. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3838101&tool=pmc-entrez&rendertype=abstract>>. Acesso em: 21/2/2017.

HOEGER BEMENT, M. K.; WEYER, A.; HARTLEY, S.; YOON, T.; HUNTER, S. K. Fatiguing exercise attenuates pain-induced corticomotor excitability. *Neuroscience letters*, v. 452, n. 2, p. 209–13, 2009. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19383441>>. Acesso em: 21/2/2017.

HOFFMAN, M. D.; SHEPANSKI, M. A.; RUBLE, S. B.; et al. Intensity and duration threshold for aerobic exercise-induced analgesia to pressure pain. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*, v. 85, n. 7, p. 1183–1187, 2004. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003999303011377>>. Acesso em: 11/11/2014.

HOHEISEL, U.; MENSE, S. Inflammation of the thoracolumbar fascia excites and sensitizes rat dorsal horn neurons. *European journal of pain* (London, England), v. 19, n. 3, p. 419–28, 2015. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25056259>>. Acesso em: 21/2/2017.

HOHEISEL, U.; REUTER, R.; FREITAS, M. F. DE; TREEDE, R.; MENSE, S. Injection of nerve growth factor into a low back muscle induces long-lasting latent hypersensitivity in rat dorsal horn neurons. *Pain*, v. 154, n. 10, p. 1953–60, 2013. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23707285>>. Acesso em: 21/2/2017.

HOHEISEL, U.; ROSNER, J.; MENSE, S. Innervation changes induced by inflammation of the rat thoracolumbar fascia. *Neuroscience*, v. 300, p. 351–9, 2015. IBRO. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26003735>>. Acesso em: 21/2/2017.

HOHEISEL, U.; TAGUCHI, T.; TREEDE, R.; MENSE, S. Nociceptive input from the rat thoracolumbar fascia to lumbar dorsal horn neurones. *European Journal of Pain*, v. 15, n. 5, p. 810–815, 2011. European Federation of International Association for the Study of Pain Chapters.

HOHEISEL, U.; UNGER, T.; MENSE, S. Excitatory and modulatory effects of inflammatory cytokines and neurotrophins on mechanosensitive group IV muscle afferents in the rat. *Pain*, v. 114, n. 1–2, p. 168–76, 2005. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15733642>>. Acesso em: 21/2/2017.

HOHEISEL, U.; UNGER, T.; MENSE, S. Sensitization of rat dorsal horn neurons by NGF-induced subthreshold potentials and low-frequency activation. A study employing intracellular recordings in vivo. *Brain research*, v. 1169, p. 34–43, 2007. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17698048>>. Acesso em: 21/2/2017.

HOHEISEL, U.; VOGT, M. A; PALME, R.; GASS, P.; MENSE, S. Immobilization stress sensitizes rat dorsal horn neurons having input from the low back. *European journal of pain (London, England)*, v. 19, n. 6, p. 861–70, 2015. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25690929>>. Acesso em: 21/2/2017.

HOHMANN, A. G.; SUPLITA, R. L. Endocannabinoid mechanisms of pain modulation. *The AAPS journal*, v. 8, n. 4, p. E693–E708, 2006.

HONORE, P.; WADE, C. L.; ZHONG, C.; et al. Interleukin-1 α gene-deficient mice show reduced nociceptive sensitivity in models of inflammatory and neuropathic pain but not post-operative pain. *Behavioural brain research*, v. 167, n. 2, p. 355–64, 2006. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16256210>>. Acesso em: 18/3/2015.

HOOTEN, W. M.; QU, W.; TOWNSEND, C. O.; JUDD, J. W. Effects of strength vs aerobic exercise on pain severity in adults with fibromyalgia: a randomized equivalence trial. *Pain*, v. 153, n. 4, p. 915–23, 2012. International Association for the Study of Pain. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22341565>>. Acesso em: 5/9/2015.

ISNARD, J.; MAGNIN, M.; JUNG, J.; et al. Does the insula tell our brain that we are in pain? *Pain*, v. 152, n. 4, p. 946–951, 2011. International Association for the Study of Pain. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.pain.2010.12.025>>. .

JIA, H.; XU, S.; LIU, Q.; et al. Effect of pioglitazone on neuropathic pain and spinal expression of TLR-4 and cytokines. *Experimental and therapeutic medicine*, v. 12, n. 4, p. 2644–2650, 2016. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=5038189&tool=pmc-entrez&rendertype=abstract>>. Acesso em: 21/2/2017.

JONES, M. D.; BOOTH, J.; TAYLOR, J. L.; BARRY, B. K. Aerobic training increases pain tolerance in healthy individuals. *Medicine and science in sports and exercise*, v. 46, n. 8, p. 1640–7, 2014. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24504426>>. Acesso em: 21/2/2017.

JULIUS, D.; BASBAUM, A. I. Molecular mechanisms of nociception. *Nature*, v. 413, n. September, p. 203–210, 2001.

KADETOFF, D.; KOSEK, E. The effects of static muscular contraction on blood pressure, heart rate, pain ratings and pressure pain thresholds in healthy individuals and patients with fibromyalgia. *European Journal of Pain*, v. 11, n. 1, p. 39–47, 2007.

KAMI, K.; TAJIMA, F.; SENBA, E. Exercise-induced hypoalgesia: potential mechanisms in animal models of neuropathic pain. *Anatomical science international*, v. 92, n. 1, p. 79–90, 2017. Springer Japan. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27484434>>. Acesso em: 21/2/2017.

KIM, J. S.; LEE, Y. H.; CHANG, Y. U.; YI, H. K. PPAR γ regulates inflammatory reaction by inhibiting the MAPK/NF- κ B pathway in C2C12 skeletal muscle cells. *Journal of Physiology and Biochemistry*, v. 73, n. 1, p. 49–57, 2017. *Journal of Physiology and Biochemistry*.

KOLTYN, K. F.; BRELLENTHIN, A. G.; COOK, D. B.; SEHGAL, N.; HILLARD, C. Mechanisms of Exercise-Induced Hypoalgesia. *The Journal of Pain*, p. 1–11, 2014. Elsevier Ltd. Disponível em:

<<http://dx.doi.org/10.1016/j.jpain.2014.09.006>>. .

KOLTYN, K. F. Analgesia Following Exercise A Review. *Sports Med*, v. 29, n. 2, p. 85–98, 2000.

KOPF, A. Guia para o Tratamento da Dor em Contextos de Poucos Recursos
Guia para o Tratamento da Dor em Contextos de Poucos Recursos. IASP, 2010.

KOSEK, E.; LUNDBERG, L. Segmental and plurisegmental modulation of pressure pain thresholds during static muscle contractions in healthy individuals. *European Journal of Pain*, v. 7, n. 3, p. 251–258, 2003.

LAMBERTUCCI, R. H.; LEVADA-PIRES, A. C.; ROSSONI, L. V; CURI, R.; PITHON-CURI, T. C. Effects of aerobic exercise training on antioxidant enzyme activities and mRNA levels in soleus muscle from young and aged rats. *Mechanisms of ageing and development*, v. 128, n. 3, p. 267–75, 2007. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17224177>>. Acesso em: 22/8/2016.

LANDMARK, T.; ROMUNDSTAD, P. R.; BORCHGREVINK, P. C.; KAASA, S.; DALE, O. Longitudinal Associations between Exercise and Pain in the General Population - The HUNT Pain Study. *PLoS ONE*, v. 8, n. 6, p. 4–9, 2013.

LEE, T.-W.; BAI, K.-J.; LEE, T.-I.; et al. PPARs modulate cardiac metabolism and mitochondrial function in diabetes. *Journal of biomedical science*, v. 24, n. 1, p. 5, 2017. *Journal of Biomedical Science*. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=5223385&tool=pmc&entrez&rendertype=abstract>>. Acesso em: 21/2/2017.

LEHRKE, M.; LAZAR, M. A. The many faces of PPARgamma. *Cell*, v. 123, n. 6, p. 993–9, 2005. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16360030>>. Acesso em: 21/2/2017.

LEUNG, A.; GREGORY, N. S.; ALLEN, L. H.; SLUKA, K. A. Regular physical activity prevents chronic pain by altering resident muscle macrophage phenotype and increasing interleukin-10 in mice. *Pain*, v. 157, n. 1, p. 70–9, 2016. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26230740>>.

LIGHT, A. R.; BATEMAN, L.; JO, D.; et al. Gene expression alterations at baseline and following moderate exercise in patients with Chronic Fatigue Syndrome and Fibromyalgia Syndrome. *Journal of internal medicine*, v. 271, n. 1, p. 64–81, 2012. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3175315&tool=pmc-entrez&rendertype=abstract>>. Acesso em: 21/2/2017.

LIU, D.; ZENG, B. X.; ZHANG, S. H.; YAO, S. L. Rosiglitazone, an agonist of peroxisome proliferator-activated receptor γ , reduces pulmonary inflammatory response in a rat model of endotoxemia. *Inflammation Research*, v. 54, n. 11, p. 464–470, 2005.

LORAM, L. C.; FULLER, A; FICK, L. G.; et al. Cytokine profiles during carrageenan-induced inflammatory hyperalgesia in rat muscle and hind paw. *The journal of pain : official journal of the American Pain Society*, v. 8, n. 2, p. 127–36, 2007. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16949880>>. Acesso em: 21/2/2017.

MANCHADO, F. DE B.; GOBATTO, C. A.; VOLTARELLI, F. A.; ALICE, M.; MELLO, R. DE. Non-exhaustive test for aerobic capacity determination in swimming rats. *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* 31:, v. 31, p. 731–736, 2006.

MANFRED ZIMMERMANN. Ethical Guidelines for investigations of Experimental Pain in Conscious Animals. *Pain*, v. 16, p. 109–110, 1983.

MATHUR, N.; PEDERSEN, B. K. Exercise as a mean to control low-grade systemic inflammation. *Mediators of inflammation*, v. 2008, p. 1–6, 2008. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2615833&tool=pmc-entrez&rendertype=abstract>>. Acesso em: 12/1/2015.

MAZZARDO-MARTINS, L.; MARTINS, D. F.; MARCON, R.; et al. High-intensity extended swimming exercise reduces pain-related behavior in mice: involvement of endogenous opioids and the serotonergic system. *The journal of pain : official journal of the American Pain Society*, v. 11, n. 12, p. 1384–93, 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20488763>>. Acesso em: 1/4/2016.

MEEUS, M.; ROUSSEL, N. A.; TRUIJEN, S.; NIJS, J. Reduced pressure pain thresholds in response to exercise in chronic fatigue syndrome but not in chronic low back pain: an experimental study. *Journal of rehabilitation medicine*, v. 42, n. 9, p. 884–90, 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20878051>>. Acesso em: 3/8/2016.

MENSE, S.; GERWIN, R. D. *Muscle Pain: Understanding the Mechanisms*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2010.

MENSE, S. Algesic agents exciting muscle nociceptors. *Experimental brain research*, v. 196, n. 1, p. 89–100, 2009. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19139871>>. Acesso em: 21/2/2017.

MENSE, S. Nociception from skeletal muscle in relation to clinical muscle pain. *Pain*, v. 54, n. 6221, p. 241–289, 1993.

MINSON. *A atividade física no controle da dor musculoesquelética. Ano de cobate a dor musculoesquelética*, 2009.

MORIMOTO, A.; WINAGA, H.; SAKURAI, H.; et al. Treadmill running and static stretching improve long-lasting hyperalgesia, joint limitation, and muscle atrophy induced by cast immobilization in rats. *Neuroscience letters*, v. 534, p. 295–300, 2013. Elsevier Ireland Ltd. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23153829>>. Acesso em: 21/2/2017.

MURASE, S.; TERAZAWA, E.; QUEME, F.; et al. Bradykinin and nerve growth factor play pivotal roles in muscular mechanical hyperalgesia after exercise (delayed-onset muscle soreness). *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, v. 30, n. 10, p. 3752–61, 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20220009>>. Acesso em: 21/2/2017.

MURRAY, C. J. L.; ATKINSON, C.; BHALLA, K.; et al. The state of US health, 1990-2010: burden of diseases, injuries, and risk factors. *Jama*, v. 310, n. 6, p. 591–608, 2013. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23842577>>. Acesso em: 21/2/2017.

NAPIMOGA, M. H.; CAVADA, B. S.; ALENCAR, N. M. N.; et al. *Lonchocarpus*

sericeus lectin decreases leukocyte migration and mechanical hypernociception by inhibiting cytokine and chemokines production. *International immunopharmacology*, v. 7, n. 6, p. 824–35, 2007. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17466916>>. Acesso em: 21/2/2017.

NAPIMOGA, M. H.; SOUZA, G. R.; CUNHA, T. M.; et al. 15d-Prostaglandin J₂ Inhibits Inflammatory Hypernociception: Involvement of Peripheral Opioid Receptor. *THE JOURNAL OF PHARMACOLOGY AND EXPERIMENTAL THERAPEUTICS*, v. 324, n. 1, p. 313–321, 2008.

NAPIMOGA, M. H.; VIEIRA, S. M.; DAL-SECCO, D.; et al. Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- Ligand, 15-Deoxy- 12,14-Prostaglandin J₂, Reduces Neutrophil Migration via a Nitric Oxide Pathway. *The Journal of Immunology*, v. 180, n. 1, p. 609–617, 2007. Disponível em: <<http://www.jimmunol.org/cgi/doi/10.4049/jimmunol.180.1.609>>. Acesso em: 23/9/2015.

NAUGLE, K. M.; CRUZ-ALMEIDA, Y.; VIERCK, C. J.; MAUDERLI, A. P.; RILEY, J. L. Age-related differences in conditioned pain modulation of sensitizing and desensitizing trends during response dependent stimulation. *Behavioural brain research*, v. 289, p. 61–8, 2015. Elsevier B.V. Disponível em: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4484852&tool=pmc_entrez&rendertype=abstract>. Acesso em: 21/2/2017.

NAUGLE, K. M.; FILLINGIM, R. B.; III, J. L. R. A meta-analytic review of the hypoalgesic effects of exercise. *J Pain*, v. 13, n. 12, p. 1139–1150, 2013.

NAUGLE, K. M.; NAUGLE, K. E.; FILLINGIM, R. B.; et al. Intensity Thresholds for Aerobic Exercise – Induced Hypoalgesia. *Med Sci Sports Exerc.*, v. 46, n. 4, p. 817–825, 2014.

NAUGLE, K. M.; NAUGLE, K. E.; RILEY, J. L. Reduced Modulation of Pain in Older Adults After Isometric and Aerobic Exercise. *The journal of pain : official journal of the American Pain Society*, v. 17, n. 6, p. 719–28, 2016. Elsevier Inc. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26993959>>. Acesso em: 21/2/2017.

NEWCOMB, L. W.; KOLTYN, K. F.; MORGAN, W. P.; COOK, D. B. Influence of preferred versus prescribed exercise on pain in fibromyalgia. *Medicine and science in sports and exercise*, v. 43, n. 6, p. 1106–13, 2011. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4598056&tool=pmc-entrez&rendertype=abstract>>. Acesso em: 10/1/2016.

OGATA, S.; WILLIAMS, F.; BURRI, A. Genetic factors explain the association between pain catastrophizing and chronic widespread pain. *The Journal of Pain*, 2017. Elsevier Inc. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1526590017305746>>. .

OKINE, B. N.; MADASU, M. K.; MCGOWAN, F.; et al. N-palmitoylethanolamide in the anterior cingulate cortex attenuates inflammatory pain behaviour indirectly via a CB1 receptor-mediated mechanism. *Pain*, v. 157, n. 12, p. 2687–2696, 2016. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27649266>>. Acesso em: 21/2/2017.

OLIVEIRA, M. C. G.; PELEGRINI-DA-SILVA, A.; TAMBELI, C. H.; PARADA, C. A. Peripheral mechanisms underlying the essential role of P2X_{3,2/3} receptors in the development of inflammatory hyperalgesia. *Pain*, v. 141, n. 1–2, p. 127–34, 2009. International Association for the Study of Pain. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19081189>>. Acesso em: 23/9/2015.

PARADA, C. A.; REICHLING, D. B.; LEVINE, J. D. Chronic hyperalgesic priming in the rat involves a novel interaction between cAMP and PKCepsilon second messenger pathways. *Pain*, v. 113, n. 1–2, p. 185–90, 2005. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15621379>>. Acesso em: 21/2/2017.

PELEGRINI-DA-SILVA, A.; OLIVEIRA, M. C. G.; PARADA, C. A.; TAMBELI, C. H. Nerve growth factor acts with the beta2-adrenoceptor to induce spontaneous nociceptive behavior during temporomandibular joint inflammatory hyperalgesia. *Life sciences*, v. 83, n. 23–24, p. 780–5, 2008. Elsevier Inc. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18930742>>. Acesso em: 21/2/2017.

PETRIZ, B. A.; ALMEIDA, J. A.; GOMES, C. P. C.; et al. Exercise performed around MLSS decreases systolic blood pressure and increases aerobic fitness in hypertensive rats. *BMC physiology*, v. 15, p. 1, 2015. Disponível em:

<<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4367833&tool=pmc&rendertype=abstract>>. Acesso em: 18/1/2016.

PEZET, S.; MCMAHON, S. B. Neurotrophins: mediators and modulators of pain. *Annual review of neuroscience*, v. 29, p. 507–38, 2006. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16776595>>. Acesso em: 21/2/2017.

PHILP, A.; MACKENZIE, M. G.; BELEW, M. Y.; et al. Glycogen content regulates peroxisome proliferator activated receptor- δ (PPAR- δ) activity in rat skeletal muscle. *PloS one*, v. 8, n. 10, p. e77200, 2013. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3798319&tool=pmc&rendertype=abstract>>. Acesso em: 16/6/2015.

PISANU, A.; LECCA, D.; MULAS, G.; et al. Dynamic changes in pro- and anti-inflammatory cytokines in microglia after PPAR- γ agonist neuroprotective treatment in the MPTPp mouse model of progressive Parkinson's disease. *Neurobiology of disease*, v. 71, p. 280–91, 2014. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25134730>>. Acesso em: 21/2/2017.

PORRECA, F.; OSSIPOV, M. H.; GEBHART, G. F. Chronic pain and medullary descending facilitation. *Trends in Neurosciences*, v. 25, n. 6, p. 319–325, 2002.

POTTABATHINI, R.; KUMAR, A.; BHATNAGAR, A.; GARG, S.; EKAVALI, E. Ameliorative potential of pioglitazone and ceftriaxone alone and in combination in rat model of neuropathic pain: Targeting PPAR γ and GLT-1 pathways. *Pharmacological reports: PR*, v. 68, n. 1, p. 85–94, 2016. Institute of Pharmacology, Polish Academy of Sciences. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26721358>>. Acesso em: 5/8/2016.

RAMYA KAPADIA, JAE-HYUK YI, R. V. D. Mechanisms of anti-inflammatory and neuroprotective actions of PPAR-gamma agonists. *Frontiers in Bioscience*, , n. 4, p. 1813–1826, 2008.

REICHLING, D. B.; LEVINE, J. D. Critical role of nociceptor plasticity in chronic pain. *Trends in neurosciences*, v. 32, n. 12, p. 611–8, 2009. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2787756&tool=pmc&rendertype=abstract>>. Acesso em: 21/2/2017.

RILEY, J. L.; CRUZ-ALMEIDA, Y.; GLOVER, T. L.; et al. Age and race effects on pain sensitivity and modulation among middle-aged and older adults. *The journal of pain : official journal of the American Pain Society*, v. 15, n. 3, p. 272–82, 2014. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4005289&tool=pmc-entrez&rendertype=abstract>>. Acesso em: 21/2/2017.

ROSLAND, J. H. The formalin test in mice: the influence of ambient temperature. *Pain*, v. 45, n. 2, p. 211–216, 1991. Disponível em: <<http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=00006396-199105000-00017>>. .

SASAKI, T.; NAKATA, R.; INOUE, H.; et al. Role of AMPK and PPAR γ 1 in exercise-induced lipoprotein lipase in skeletal muscle. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism*, v. 306, n. 9, p. E1085-92, 2014. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24644240>>. Acesso em: 16/6/2015.

SCARIOT, P. P. M.; MANCHADO-GOBATTO, F. D. B.; TORSONI, A. S.; et al. Continuous Aerobic Training in Individualized Intensity Avoids Spontaneous Physical Activity Decline and Improves MCT1 Expression in Oxidative Muscle of Swimming Rats. *Frontiers in physiology*, v. 7, n. April, p. 132, 2016. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4834519&tool=pmc-entrez&rendertype=abstract>>. Acesso em: 9/8/2016.

SCHIAVUZZO, J. G.; TEIXEIRA, J. M.; MELO, B.; et al. Muscle hyperalgesia induced by peripheral P2X3 receptors is modulated by inflammatory mediators. *NEUROSCIENCE*, v. 285, p. 24–33, 2015. IBRO. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2014.11.020>>. .

SCHILDER, A.; HOHEISEL, U.; MAGERL, W.; et al. Sensory findings after stimulation of the thoracolumbar fascia with hypertonic saline suggest its contribution to low back pain. *Pain*, v. 155, n. 2, p. 222–31, 2014. International Association for the Study of Pain. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24076047>>. Acesso em: 21/2/2017.

SHARMA, N. K.; RYALS, J. M.; GAJEWSKI, B. J.; WRIGHT, D. E. Aerobic exercise alters analgesia and neurotrophin-3 synthesis in an animal model of chronic widespread pain. *Physical therapy*, v. 90, n. 5, p. 714–25, 2010. Disponível em:

<<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3171655&tool=pmc-entrez&rendertype=abstract>>. Acesso em: 21/2/2017.

SHEN, J.; FOX, L. E.; CHENG, J. Swim therapy reduces mechanical allodynia and thermal hyperalgesia induced by chronic constriction nerve injury in rats. *Pain medicine (Malden, Mass.)*, v. 14, n. 4, p. 516–25, 2013. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3625453&tool=pmc-entrez&rendertype=abstract>>. Acesso em: 21/2/2017.

SIGWALT, A. R.; BUDDE, H.; HELMICH, I.; et al. Molecular aspects involved in swimming exercise training reducing anhedonia in a rat model of depression. *Neuroscience*, v. 192, p. 661–74, 2011. Elsevier Inc. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21712072>>. Acesso em: 18/1/2016.

SILVA, A. S. R. DA; PAULI, J. R.; ROPELLE, E. R.; et al. Exercise intensity, inflammatory signaling, and insulin resistance in obese rats. *Medicine and science in sports and exercise*, v. 42, n. 12, p. 2180–8, 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20473230>>. Acesso em: 4/4/2016.

SLUKA, K. A.; O'DONNELL, J. M.; DANIELSON, J.; RASMUSSEN, L. A. Regular physical activity prevents development of chronic pain and activation of central neurons. *Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, v. 114, n. 6, p. 725–33, 2013. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3615604&tool=pmc-entrez&rendertype=abstract>>. Acesso em: 20/8/2014.

SLUKA, K. A.; RASMUSSEN, L. A. Fatiguing exercise enhances hyperalgesia to muscle inflammation. *Pain*, v. 148, n. 2, p. 188–97, 2010. International Association for the Study of Pain. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2815159&tool=pmc-entrez&rendertype=abstract>>. Acesso em: 10/1/2016.

SOUZA, G. G. DE; DUARTE, I. D.; CASTRO PEREZ, A. DE. Differential

involvement of central and peripheral $\alpha 2$ adrenoreceptors in the antinociception induced by aerobic and resistance exercise. *Anesthesia and analgesia*, v. 116, n. 3, p. 703–11, 2013. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23400995>>. Acesso em: 27/3/2015.

STAGG, N. J.; MATA, H.; IBRAHIM, M.; et al. Regular Exercise Reverses Sensory Hypersensitivity in a Rat Neuropathic Pain Model. *Anesthesiology*, v. 114, n. 4, p. 940–948, 2011.

STAUD, R.; ROBINSON, M. E.; PRICE, D. D. Isometric exercise has opposite effects on central pain mechanisms in fibromyalgia patients compared to normal controls. *Pain*, v. 118, n. 1–2, p. 176–84, 2005. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16154700>>. Acesso em: 27/3/2015.

STAUD, R.; VIERCK, C. J.; CANNON, R. L.; MAUDERLI, A. P.; PRICE, D. D. Abnormal sensitization and temporal summation of second pain (wind-up) in patients with fibromyalgia syndrome. *Pain*, v. 91, n. 1–2, p. 165–175, 2001.

STAUD, R. Evidence for Shared Pain Mechanisms in Osteoarthritis ., *Current Rheumatology Rep*, v. 13, n. 7, p. 513–520, 2011.

STECCO, C.; STERN, R.; PORZIONATO, A; et al. Hyaluronan within fascia in the etiology of myofascial pain. *Surgical and radiologic anatomy : SRA*, v. 33, n. 10, p. 891–6, 2011. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21964857>>. Acesso em: 21/2/2017.

STEGLITZ, J.; BUSCEMI, J.; FERGUSON, M. J. The future of pain research, education, and treatment: *TBM*, v. 2, p. 6–8, 2012.

SUZUKI, R.; DICKENSON, A. H. Differential pharmacological modulation of the spontaneous stimulus-independent activity in the rat spinal cord following peripheral nerve injury. *Experimental neurology*, v. 198, p. 72–80, 2006.

TEIXEIRA, J. M.; OLIVEIRA, M. C. G.; PARADA, C. A.; TAMBELI, C. H. Peripheral mechanisms underlying the essential role of P2X7 receptors in the development of inflammatory hyperalgesia. *European journal of pharmacology*, v. 644, n. 1–3, p. 55–60, 2010. Elsevier B.V. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20621090>>. Acesso em: 24/9/2013.

TESARZ, J.; GERHARDT, A.; SCHOMMER, K.; TREEDE, R.-D.; EICH, W. Alterations in endogenous pain modulation in endurance athletes: an experimental study using quantitative sensory testing and the cold-pressor task. *Pain*, v. 154, n. 7, p. 1022–9, 2013. International Association for the Study of Pain. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23657118>>. Acesso em: 11/12/2016.

UGUCCIONI, G.; D'SOUZA, D.; HOOD, D. A. Regulation of PPAR γ Coactivator-1 α Function and Expression in Muscle: Effect of Exercise. **PPAR research**, v. 2010, 2010. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2933917&tool=pmc&rendertype=abstract>>. Acesso em: 16/6/2015.

UMEDA, M.; LEE, W.; MARINO, C. A; HILLIARD, S. C. Influence of moderate intensity physical activity levels and gender on conditioned pain modulation. *Journal of sports sciences*, v. 34, n. 5, p. 467–76, 2016. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26140671>>. Acesso em: 21/2/2017.

UMEDA, M.; WILLIAMS, J. P.; MARINO, C. A; HILLIARD, S. C. Muscle pain and blood pressure responses during isometric handgrip exercise in healthy African American and non-Hispanic White adults. *Physiology & behavior*, v. 138, p. 242–6, 2015. Elsevier Inc. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25455868>>. Acesso em: 21/2/2017.

VAEGTER, H. B.; HANDBERG, G.; GRAVEN-NIELSEN, T. Hypoalgesia After Exercise and the Cold Pressor Test is Reduced in Chronic Musculoskeletal Pain Patients With High Pain Sensitivity. *The Clinical journal of pain*, v. 32, n. 1, p. 58–69, 2016. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26646608>>. Acesso em: 10/1/2016.

VERRIOTIS, M.; CHANG, P.; FITZGERALD, M.; FABRIZI, L. The development of the nociceptive brain. *Neuroscience*, v. 338, p. 207–219, 2016. IBRO. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27457037>>. Acesso em: 21/2/2017.

WALDER, R. Y.; RASMUSSEN, L. A.; RAINIER, J. D.; et al. ASIC1 and ASIC3 play different roles in the development of Hyperalgesia after inflammatory

muscle injury. The journal of pain : official journal of the American Pain Society, v. 11, n. 3, p. 210–8, 2010. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2943154&tool=pmc-entrez&rendertype=abstract>>. Acesso em: 21/2/2017.

WARDEN, A.; TRUITT, J.; MERRIMAN, M.; et al. Localization of PPAR isotypes in the adult mouse and human brain. Scientific reports, v. 6, n. May, p. 27618, 2016. Nature Publishing Group. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4901333&tool=pmc-entrez&rendertype=abstract>>. Acesso em: 21/2/2017.

WEINKAUF, B.; DEISING, S.; OBREJA, O.; et al. Comparison of nerve growth factor-induced sensitization pattern in lumbar and tibial muscle and fascia. Muscle & nerve, v. 52, n. 2, p. 265–72, 2015. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25521275>>. Acesso em: 21/2/2017.

WHITESIDE, A.; HANSEN, S.; CHAUDHURI, A. Exercise lowers pain threshold in chronic fatigue syndrome. Pain, v. 109, n. 3, p. 497–9, 2004. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15157711>>. Acesso em: 10/1/2016.

WONDERS, K. Y.; DRURY, D. G. Exercise Intensity as a Determinant of Exercise Induced Hypoalgesia Exercise Intensity as a Determinant of Exercise Induced Hypoalgesia. Journal of Exercise Physiology online, v. 14, n. August, p. 134–144, 2011.

ZELLER, J. L. Acute Pain Treatment. The Journal of the American Medical Association, v. 299, p. 8724, 2008.

ZHANG, J.; HOHEISEL, U.; KLEIN, T.; et al. High-frequency modulation of rat spinal field potentials: effects of slowly conducting muscle vs. skin afferents. Journal of neurophysiology, v. 115, n. 2, p. 692–700, 2016. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26561600>>. Acesso em: 21/2/2017.

ZHANG, J.; MENSE, S.; TREEDE, R.-D.; HOHEISEL, U. Prevention and reversal of latent sensitization of dorsal horn neurons by glial blockers in a model of low back pain in male rats. Journal of neurophysiology, v. 4, p. jn.00680.2016, 2017.

ZHOU, Z.; PENG, X.; HAGSHENAS, J.; et al. A novel cell – cell signaling by microglial transmembrane TNF α with implications for neuropathic pain. *Pain*, v. 151, n. 2, p. 296–306, 2010. International Association for the Study of Pain. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.pain.2010.06.017>>. .

10. ANEXOS

ANEXO 1 – Certificado de aceite do protocolo de comitê de ética CEUA/UNICAMP



CEUA/UNICAMP

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado "Hipoalgesia Induzida pelo Exercício: Efeito do exercício físico crônico clássico e individualizado e avaliação do envolvimento dos receptores PPAR- γ nesse processo", protocolo nº 3869-1, sob a responsabilidade de Profa. Dra. Maria Cláudia Gonçalves de Oliveira Fusaro / Graciana De Azambuja, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo *Chordata*, subfilo *Vertebrata* (exceto o homem) para fins de pesquisa científica ou ensino, encontra-se de acordo com os preceitos da **LEI Nº 11.794, DE 8 DE OUTUBRO DE 2008**, que estabelece procedimentos para o uso científico de animais e do **DECRETO Nº 6.899, DE 15 DE JULHO DE 2009**, e com as normas editadas pelo **Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal - CONCEA**, e foi aprovado pela **Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Campinas - CEUA/UNICAMP**, em reunião de 08 de junho de 2015.

Vigência do projeto: 07/2015-12/2016

Espécie/Linhagem: Rato heterogênico / Wistar

No. de animais: 67

Peso/Idade: 04 semanas / 150gr

Sexo: machos

Origem: CEMIB/UNICAMP

A aprovação pela CEUA/UNICAMP não dispensa autorização prévia junto ao **IBAMA**, **SISBIO** ou **CIBio**.

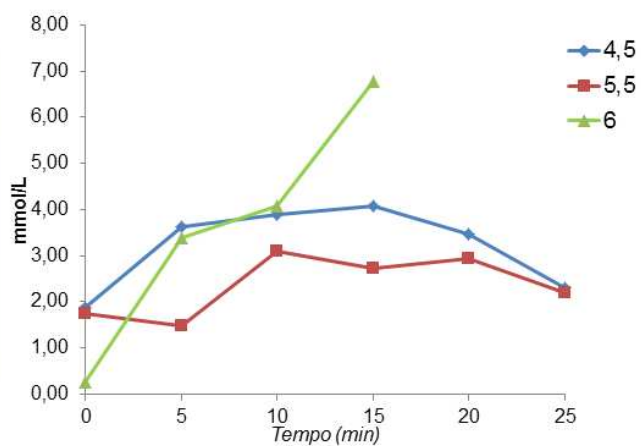
Campinas, 08 de junho de 2015.

Profa. Dra. Liana Maria Cardoso Verinaud
Presidente

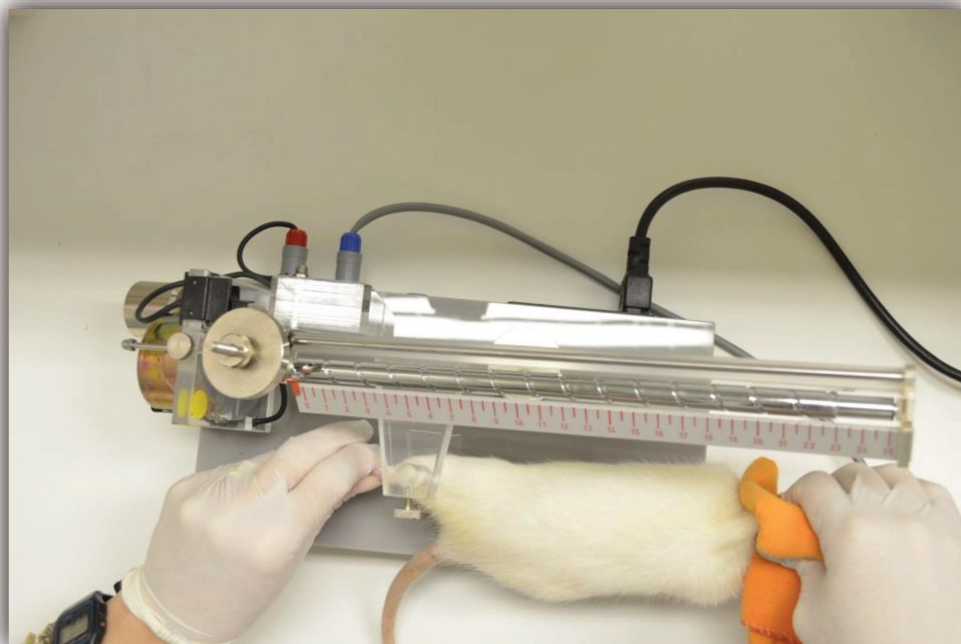
Fátima Alonso
Secretária Executiva

ANEXO 2 – Determinação da intensidade na Máxima Fase Estável de Lactato (nível de lactacidemia) – exemplo Rato 24: intensidade de MFEL determinada: 5.5% da massa corporal

	Rato 24		
Tempo/Lac	4,5	5,5	6
0	1,87	1,75	0,26
5	3,63	1,48	3,39
10	3,91	3,09	4,08
15	4,07	2,73	6,79
20	3,47	2,94	
25	2,29	2,21	
Delta	-1,34	0,73	



ANEXO 3 – Analgesímetro Insight, para quantificação da hiperalgesia muscular mecânica, pelo método de Randall Selitto.



ANEXO 4 – *Von Frey* eletrônico, usado para quantificar hiperalgesia muscular mecânica na região lombar

