



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

ESCOLA DE EDUCAÇÃO FÍSICA

MARCELO XAVIER CORTES

**EXERCÍCIO AERÓBICO REGULAR RESTAURA OS NÍVEIS DE
CATECOLAMINAS EM GLÂNDULAS SUPRA-RENAIS DE RATOS COM
HIPERFENILALANINEMIA**

PORTO ALEGRE

2010

MARCELO XAVIER CORTES

**EXERCÍCIO AERÓBICO REGULAR RESTAURA OS NÍVEIS DE
CATECOLAMINAS EM GLÂNDULAS SUPRA-RENAIS DE RATOS COM
HIPERFENILALANINEMIA**

Trabalho de Conclusão de Curso da Escola Superior de Educação Física da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito para obtenção do título de Bacharel em Educação Física.

ORIENTADOR: PROF. DR. CARLOS SEVERO DUTRA FILHO

PORTO ALEGRE

2010

RESUMO

Fenilcetonúria é caracterizada pela deficiência da enzima fenilalanina hidroxilase, causando acúmulo de fenilalanina, o que acaba por provocar distúrbios no sistema nervoso central. Diagnóstico precoce e subordinação à dieta hipoprotéica evita as alterações decorrentes. Porém, não aderir estritamente a essa dieta leva à diminuição da concentração de tirosina, o aminoácido precursor de catecolaminas, em relação aos demais aminoácidos. Esses hormônios atuam sobre a regulação de inúmeras funções do metabolismo energético, como também do apetite e exercem influência sobre diversos tecidos. O exercício aeróbico aumenta a ativação simpática no sistema nervoso central, o qual estimula a secreção destes hormônios pelas glândulas supra-renais. Como a população fenilcetonúrica que não adere à dieta apresenta níveis diminuídos desses hormônios, o objetivo deste estudo foi avaliar se o exercício aeróbico é capaz de normalizar as concentrações de catecolaminas nas glândulas supra-renais de ratos jovens com hiperfenilalaninemia. Os animais foram divididos em dois grupos: Sedentário (Sed) e Exercício (Exe), os quais foram subdivididos em Salina (Sal) e Hiperfenilalaninemia (HPA). A hiperfenilalaninemia foi induzida através da administração de α -metilfenilalanina e fenilalanina nos Grupos HPA (n=10) durante 17 dias, enquanto os grupos SAL (n=10) receberam solução salina. Grupos Exe realizaram 14 sessões de exercício aeróbico com duração de 20 minutos. Os níveis de catecolaminas do grupo SedHPA foram menores que os do grupo SedSAL, condizente com a condição de hiperfenilalaninemia. O exercício aeróbico aumentou significativamente a concentração de catecolaminas supra-renais do grupo ExeHPA em relação ao SedHPA, efeito que não foi observado entre os grupos SedSAL e ExeSAL. Os resultados podem indicar um importante papel do exercício aeróbico para restaurar a concentração de catecolaminas nas glândulas supra-renais na condição de hiperfenilalaninemia.

Palavras-chave: fenilcetonúria, hiperfenilalaninemia, exercício aeróbico, catecolaminas.

ABSTRACT

Phenylketonuria is characterized by deficiency of the enzyme phenylalanine hydroxylase, causing accumulation of phenylalanine, that provokes disturbances in the central nervous system. Early diagnosis and subordination to the hypoproteic diet prevent current disorders. However, do not adhere strictly to that diet cause decreased concentration of tyrosine, the amino acid precursor of catecholamines, in relation to other amino acids. These hormones act on the regulation of many functions related to energy metabolism, as well as on the appetite and acting on several tissues. Aerobic exercise increases the sympathetic activation on the central nervous tissue, which stimulates the secretion of these hormones by the adrenal glands. As the phenylketonuric population that does not adhere exclusively to the diet presents reduced levels of those hormones, the objective of this study was to evaluate if the aerobic exercise is capable to normalize catecholamines concentration in the adrenal glands of young rats with induced hyperphenylalaninemia. Animals were divided in to two groups: Sedentary (Sed) and Exercise (Exe), which was subdivided into Saline (Sal) and Hyperphenylalanemic (HPA). Hyperphenylalaninemia was induced by the administration of α -methylphenylalanine and phenylalanine (HPA groups; n=10) for 17 days, while groups SAL (n=10) received saline solution. Exe groups conducted a 20 minutes session of aerobic exercise during 17 days. Catecholamine levels of SedHPA group were lower than those of group SedSAL, consistent with the condition of hyperphenylalaninemia. Aerobic exercise significantly increased the concentration of catecholamines from the adrenal glands in ExeHPA comparing to group SedHPA, effect that was not observed between SedSAL and ExeSAL groups. The results indicate an important role of aerobic exercise to restore the concentration of catecholamines in the adrenal gland in hyperphenylalaninemic condition.

Key-words: phenylketonuria, hyperphenylalaninemia, endurance exercise, catecholamines.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	06
2 REVISÃO DE LITERATURA	10
2.1 Fenilcetonúria	10
2.2 Exercício Físico e Catecolaminas	11
2.3 Fisiologia da Medula Supra-renal	13
3 MATERIAIS E MÉTODOS	19
3.1 Questões de Pesquisa	19
3.2 População e Amostra	19
3.3 Definição das Variáveis	19
3.3.1 Conceitual	19
3.3.2 Operacional	20
3.3.3 Dependente	20
3.3.4 Independentes	20
3.4 Instrumentos de Pesquisa	20
3.5 Processamento de Dados	22
3.6 Procedimentos Estatísticos	22
4 RESULTADOS	24
5 DISCUSSÃO	25
6 CONCLUSÕES	27
7 REFERÊNCIAS	28

1 INTRODUÇÃO

A fenilcetonúria é um dos mais comuns erros inatos do metabolismo, sendo registrada na frequência de 1 para cada 10000 a 15000 nascimentos (WIDAMAN 2009). Foi descrita pela primeira vez em 1934 pelo médico Asbjorn Fölling, a partir da observação de dois irmãos com retardo mental, que apresentavam odor característico na urina e excreção aumentada de ácido fenilpirúvico e fenilalanina (VILARINHO et al. 2006).

É uma doença provocada por herança genética de um erro no cromossomo onde está localizado o gene da enzima fenilalanina hidroxilase (PAH), esta que é, predominantemente, presente no fígado – além de ser encontrada nos rins e no pâncreas – a qual é responsável pela catálise da hidroxilação, irreversível, da fenilalanina (aminoácido essencial) convertendo-a em tirosina (HARDING 2010). Com essa rota inativada, a fenilalanina acumula-se e segue rotas alternativas, causando distúrbios até agora reportados principalmente no sistema nervoso central (SNC). Quando não diagnosticada precocemente, a criança portadora de fenilcetonúria apresenta um quadro clínico caracterizado por microcefalia, retardo mental severo e epilepsia (SURTEES & BLAU 2000), além de baixa pigmentação, atraso no crescimento e eczema (HARDING 2010). Mais tarde, entre os 20 e os 30 anos de idade, ocorre o surgimento ou a progressão da desordem motora (SURTEES & BLAU 2000).

Como o quadro desta doença apresenta deficiência ou uma menor ativação da enzima PAH, conseqüentemente, nos pacientes que sofrem dela, é encontrado um acúmulo de fenilalanina em todos os tecidos do corpo, como também uma deficiência de tirosina (FERNSTROM & FERNSTROM 2010). A fim de evitar esses distúrbios, os fenilcetonúricos adotam uma dieta hipoprotéica, especialmente restrita em fenilalanina, para a manutenção dos níveis sanguíneos deste aminoácido dentro da normalidade, diminuindo assim, seu consumo, desde o diagnóstico da doença. Porém, a necessidade protéica não permite sua total eliminação da dieta, causando oscilações na concentração da fenilalanina plasmática. Na carência da enzima PAH hepática, a fenilalanina ingerida segue rotas alternativas de metabolização e, mesmo para indivíduos submetidos precocemente e continuamente à dieta especial, o aumento de fenilalanina sanguínea e seus metabólitos são tóxicos ao organismo e acarretam várias desordens de causa ainda desconhecida (SURTEES & BLAU 2000; GÜTTLER & LOU 1986; TAYLOR et al. 1983).

A taxa elevada de fenilalanina provoca diminuição na concentração dos demais aminoácidos neutros, diminuindo sua captação pelas glândulas supra-renais (SCHULPIS et al. 2005), além de prejudicar a passagem desses pela barreira hematoencefálica, na qual dará origem à dopamina (DA) (SURTEES & BLAU 2000; MILOVANOVIĆ et al. 1999; HERRERO et al. 1983). Desse modo, acaba por ocorrer uma diminuição da disponibilidade de tirosina tecidual podendo influenciar na síntese de catecolaminas (FERNSTROM & FERNSTROM 2010, SCHULPIS et al. 2005).

As catecolaminas podem ser caracterizadas tanto como neurotransmissores como hormônios, dependendo de sua síntese e secreção, as quais têm diversas funções no organismo. São sintetizadas a partir do aminoácido aromático tirosina na medula da glândula supra-renal assim como nos corpos axonais dos neurônios dopaminérgicos e do sistema simpático, onde segue uma cascata de reações até formar DA, noradrenalina (NA) e adrenalina (A), nesta ordem (GUYTON 1988). As enzimas necessárias para cada etapa não são encontradas em todas as células que secretam catecolaminas, porém as que sintetizam A expressam todas essas enzimas. Com isso, uma vez que uma menor quantidade de tirosina foi capturada pelas glândulas supra-renais, influenciando na sua síntese de catecolaminas, as pessoas portadoras de fenilcetonúria que não seguem corretamente sua dieta, têm níveis abaixo dos considerados normais (SCHULPIS et al. 2005).

A medula dessas glândulas é ativada pelo sistema nervoso simpático (PASSIAS et al. 1996). Essa ativação, a qual acarreta tanto na síntese como na liberação dos hormônios para a corrente sanguínea, provoca diversos estímulos fisiológicos para o controle do metabolismo dentre outras funções corporais, caracterizados por atuar em reposta a situações de luta ou fuga, quando é necessário um maior aporte energético, assim como acontece durante o exercício físico (ÅSTRAND et al. 2006). Também controlam a secreção de adiponectinas pelos adipócitos que consequentemente estão aumentadas na população fenilcetonúrica não tratada, devido a sua menor concentração de catecolaminas, tendo correlação com o controle do peso corporal (SCHULPIS et al. 2005). São afetados, pelo desequilíbrio sofrido por esses sujeitos, os níveis de grelina e leptina, dois hormônios que estão diretamente ligados com metabolismo, consumo alimentar e controle do índice de massa corporal.

O exercício físico é conhecidamente um estímulo de estresse, tanto em seres humanos como em outros animais, que conduz inúmeras alterações fisiológicas as quais visam suprir o aumento da demanda energética buscando uma nova situação de

homeostase (FILAIRE et al. 1996). Sabe-se que exercícios resultam em maiores incrementos na atividade de biomarcadores hormonais de estresse que respondem ao esforço, sendo um deles as catecolaminas. O aumento da atividade desses hormônios não somente influencia no metabolismo, mas também nos sistemas cardiovascular, respiratório, digestivo e renal (SMILIOS et al. 2002; CONTARTEZE et al. 2007). Isto também é relatado por Åstrand (2006) e Kvetnansky (1993) quando se referem a exercícios prolongados, os quais provocam a elevação destes hormônios que sustentam a disponibilidade dos substratos energéticos. Com isso, essas alterações são importantes para garantir bom desempenho no exercício.

Além disso, para que os níveis de catecolaminas estejam aumentados durante o exercício físico, há uma dependência direta de sua intensidade, duração e frequência. Esses níveis elevados podem ser explicados por várias razões, tais como: necessidade maior de captação de glicose, funcionamento cardíaco aumentado, vasoconstrição para redistribuir o volume sanguíneo aos músculos ativos e necessidades ventilatórias aumentadas (GALBO 1983; LEHMANN et al. 1983; BROOKS et al. 1988; BUNT 1986; McMURRAY & HACKNEY 2003).

Em modelo animal, diversos estudos já fizeram uso do exercício físico visando analisar seus possíveis benefícios sobre diversos fatores fisiológicos. Com relação à produção de catecolaminas pelas supra-renais, foi observado que o exercício voluntário, onde não se tem o controle sobre intensidade, duração ou frequência, não foi capaz de alterar a expressão da enzima tirosina hidroxilase (TH) quando comparado a ratos controle (ERDÖS 2007). Em contrapartida, Tümer et al. já haviam, em 1999, reportado que, mesmo sem um entendimento total do mecanismo responsável, um aumento da atividade simpática e o consequente aumento da liberação de acetilcolina nas terminações simpáticas das células cromafins da medula supra-renal, parece proporcionar o aumento da enzima TH. Este mesmo pesquisador, em 2001, analisou a expressão desta enzima sob a influência de exercício físico em ratos. Neste caso, controlando os parâmetros não assistidos por Erdös (intensidade, duração ou frequência), ele observou um aumento no RNA mensageiro (RNAm) de TH. Além disto, sabe-se que ratos expostos a estresse crônico variado, durante 14 dias, apresentam hipertrofia da medula supra-renal, o que poderia ser resultante de uma maior produção de catecolaminas por esta região da glândula (ULRICH-LAI 2006). O exercício físico iria, portanto, ao encontro desta informação, tendo em vista que também é um exemplo de estresse, sugerindo a possibilidade de apresentar uma adaptação semelhante neste

tecido, como foi observado por Kjær (1997), onde o treinamento físico crônico em ratos apresentou, além de um aumento na massa da medula das glândulas supra-renais, uma maior concentração de catecolaminas em seu interior.

Assim, objetivo geral deste estudo é verificar o efeito de exercício aeróbico regular e controlado sobre a concentração de catecolaminas nas glândulas supra-renais de ratos com hiperfenilalaninemia. Como objetivo específico, temos comparar a concentração de catecolaminas nas glândulas supra-renais em resposta a exercício aeróbico de 14 dias em ratos jovens com hiperfenilalaninemia, em comparação a animais saudáveis.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Fenilcetonúria

Caracterizada pela deficiência da enzima PAH, que converte o aminoácido essencial fenilalanina em outro aminoácido, a tirosina, quando não tratada com uma dieta restrita do mesmo, acarreta o aumento de sua concentração plasmática (WIDAMAN 2009). Como a captação dos aminoácidos neutros ocorre pelo mesmo receptor, conseqüentemente, há uma maior captação de fenilalanina e uma diminuição da disponibilidade dos demais aminoácidos nos tecidos dos fenilcetonúricos, entre eles as glândulas supra-renais, quando comparados aos de indivíduos saudáveis. O menor aporte de tirosina nas glândulas supra-renais destes sujeitos vai ao encontro da menor concentração de catecolaminas plasmáticas encontradas nesta população, quando comparada com os demais. Como a tirosina é o aminoácido precursor da síntese de A e NA nestas glândulas, sua carência pode acarretar na menor síntese destes hormônios (SCHULPIS et al. 2004).

Isto vai ao encontro de outra característica desta população também descrita por Schulpis et al. (2004), o qual já reportou que indivíduos não tratados apresentam maiores níveis plasmáticos de adipocinas, as quais são hormônios sintetizados e secretados pelo tecido adiposo. Como este desequilíbrio está atrelado ao estímulo sinalizado pelas catecolaminas a este tecido, sua maior quantidade nesta população seria mais um fator contrastante aos dados catecolaminérgicos relatados.

Taylor et al. (1983) estudaram os efeitos da hiperfenilalaninemia em ratos saudáveis com idade de 35 dias. Os animais receberam rações com diferentes suplementos, exceto para o grupo controle, durante 10 dias. Os grupos foram separados de acordo com os seguintes compostos adicionados ao alimento: 5% de fenilalanina junto a 0,4% de α -metil-fenilalanina (α -MP); somente 5% de fenilalanina; somente α -MP. Foram encontrados decréscimos nos valores de diidroxifenilalanina (DOPA), NA e A nos grupos suplementados em relação ao grupo controle. O grupo de dieta suplementada de α -MP mostrou diminuição similar que pode ser atribuída à presença deste inibidor de PAH.

A respeito da menor concentração de tirosina plasmática em fenilcetonúricos, com o intuito de reverter o desequilíbrio causado pela fenilalanina em excesso, Koch et al. (2003) testaram os efeitos da suplementação de aminoácidos neutros em seis sujeitos

com fenilcetonúria. Todos os indivíduos apresentaram limitada ou deficiente concentração sanguínea de tirosina no início do estudo, sendo aumentada substancialmente no final da intervenção. As concentrações sanguíneas de fenilalanina permaneceram inalteradas, enquanto os níveis no cérebro – tecido analisado por espectroscopia de ressonância magnética, o qual tem semelhantes características de captação de aminoácidos neutros às das glândulas supra-renais – foram diminuindo gradativamente.

Seguindo o fato desta população, quando não tratada, apresentar baixos níveis plasmáticos do precursor de catecolaminas, se tem conhecimento que isto leva a uma menor concentração das mesmas por suas glândulas secretoras. Devido a esta diminuição, o tecido adiposo, o qual é responsável pela liberação de diversas adipocinas, também acaba sendo afetado. As adipocinas são peptídeos bioativos importantes na regulação energética, resposta inflamatória e imunológica (MAFRA & FARAGE 2006). Entre as adipocinas mais estudadas está a leptina, a qual se apresenta aumentada nesses indivíduos, provocando um desequilíbrio sistêmico generalizado. (SCHULPIS et al. 2000). Via receptores β -adrenérgicos, neste tecido, A e NA inibem a secreção de leptina, e com isto os fenilcetonúricos acabam sendo afetados por seus níveis catecolaminérgicos alterados. (SCHULPIS et al. 2004). Por outro lado, encontra-se uma diminuição da grelina, hormônio oriundo principalmente das células estomacais, com características contrárias às da leptina por aumentar o apetite e diminuir o metabolismo energético, os quais em indivíduos normais também se apresentam em concentrações mais elevadas em relação a esta população (SCHULPIS et al. 2004). Outra adipocina aumentada nestes sujeitos é a adiponectina (SCHULPIS et al. 2005). Entre suas características está a de aumentar a oxidação muscular dos ácidos graxos e reduzir a concentração de glicose plasmática através da ativação de adenosina monofosfato quinase (AMPK) (COSTA & DUARTE 2006), o que também acaba por alterar outros fatores metabólicos, como o estímulo de processos catabólicos (MICHAEL E COX 2008).

2.2 Exercício Físico e Catecolaminas

A elevação da atividade simpato-adrenérgica, ao início de um exercício físico, gera diversas respostas em todo o organismo. Estímulos simpáticos do SNC para a medula adrenal proporcionam a liberação de A no sangue, e sobre as terminações pós-

ganglionares de fibras nervosas simpáticas liberam o hormônio NA. Essas catecolaminas apresentam uma série de efeitos fisiológicos. Atuando sobre receptores β -adrenérgicos, no coração, aumentam a frequência cardíaca e a contratilidade ventricular. A ação sobre os receptores α -adrenérgicos nas arteríolas de músculos lisos provocam vaso constrição em órgãos como estômago, intestinos e pele. O fluxo sanguíneo para os músculos, entretanto, aumenta principalmente devido ao efeito vasodilatador das catecolaminas circulantes e sobre os receptores β -adrenérgicos. Estes últimos, por sua vez, dominam as arteríolas dos músculos esqueléticos. Também é provocado o aumento da pressão sanguínea devido a elevação do débito cardíaco e da vasoconstrição periférica (ÅSTRAND et al. 2006).

O exercício aeróbico de baixa intensidade e longa duração tem como característica a predominância do sistema oxidativo como gerador de energia, utilizando lipídios como principal substrato energético. A lipólise é estimulada pelas catecolaminas, as quais aumentam a atividade da lipase hormônio sensível, responsável pela disponibilização dos ácidos graxos que estão armazenados no tecido adiposo, através da quebra dos triglicerídeos em uma molécula de glicerol e três ácidos graxos (ÅSTRAND et al. 2006).

Além da liberação de fonte energética pelos adipócitos, composta por ácidos graxos e glicerol, as catecolaminas têm relação com a secreção de adipocinas por estas células. Uma delas é a leptina. Este hormônio, o qual é caracterizado pela inibição do apetite e aumento do metabolismo basal, acaba tendo sua secreção inibida quando há o aumento destes hormônios na corrente sanguínea. Como durante o exercício físico há um aumento do estímulo simpático, conseqüentemente há uma maior ativação da medula adrenal provocando um aumento sanguíneo de catecolaminas. Este aumento acaba por regular a liberação de adipocinas nas células adiposas e, por conseguinte, diminuindo os níveis de leptina. Porém, nos fenilcetonúricos, há uma menor síntese de catecolaminas e uma conseqüente menor inibição na secreção daquela adipocina. Isto pode ocorrer pela menor ação das catecolaminas nesta população, devido à sua menor liberação e produção. Este é mais um fator alterado desta população quando comparada a indivíduos que não possuem esta patologia (SHULPIS et al. 2005).

Seguindo os efeitos do exercício físico sobre os níveis de catecolaminas, já foi observado que o treinamento físico em ratos durante 10 semanas aumentou o conteúdo de catecolaminas na medula das glândulas supra-renais assim como causou hipertrofia das mesmas Kjær (1997). Não diretamente sobre a síntese de catecolaminas, mas sobre

a enzima inicial da cascata de sua síntese, Tümer et al. (2001) observaram que o exercício físico regular e controlado propiciou o aumento nos níveis de RNAm de TH.

2.3 Fisiologia da Medula Supra-renal

A glândula supra-renal pode ser subdividida em córtex, que secreta glicocorticóides e mineralocorticóides, e medula, cujo principal produto de secreção é a A (DA POIAN & CARVALHO-ALVES 2002). A porção medular foi primeiramente distinguida no início do século XIX (GREENSPAN & GARDNER 2001).

A medula da supra-renal, que deriva do ectoderma, é formada por células chamadas de cromafins ou feocromócitos pelo fato de serem coradas pelo ácido crômico. Essas células sintetizam as catecolaminas: A e NA, sob a ação tônica das fibras colinérgicas do sistema simpático (DE NICOLA 2004). Outra catecolamina também produzida é a DA, porém em concentrações bem menores, e apresenta funções basicamente vasomotoras, diferentemente das demais que possuem caráter metabólico (DA POIAN & CARVALHO-ALVES 2002).

As catecolaminas, na medula da supra-renal, são armazenadas em grânulos de secreção, sendo a A a mais abundante (aproximadamente 85%), para posteriormente serem liberadas na corrente circulatória e agirem como hormônios em quase todos os tecidos do corpo (DESPOPOULOS & SILBERNAGL 1991). Porém esta quantidade pode variar para 75%, semelhante ao observado em ratos (GREENSPAN & GARDNER 2001).

A medula supra-renal e o sistema simpático formam uma unidade anatomofisiológica denominada sistema simpato-adrenal. Tratos provenientes da ponte, do bulbo e do hipotálamo fazem sinapse com neurônios simpáticos da medula espinhal localizados na coluna intermediária. Os axônios desses neurônios pré-ganglionares podem passar através dos gânglios simpáticos para formar os nervos esplâncnicos que inervam a medula supra-renal. Seu principal neurotransmissor é a acetilcolina que excita as células cromafins ligando-se a receptores nicotínicos (DE NICOLA 2004).

As catecolaminas são liberadas da medula supra-renal em resposta a impulsos regulatórios provenientes do SNC, tipicamente diante de situações de estresse físico, como o exercício, ou psíquico (DESPOPOULOS & SILBERNAGL 1991).

A biossíntese das catecolaminas na glândula supra-renal ocorre a partir do aminoácido tirosina que circula no sangue e pode ser captado pela medula supra-renal, o

qual também é formado a partir do aminoácido fenilalanina. A tirosina é convertida em DOPA pela enzima TH (enzima limitante da síntese de catecolaminas), a qual usa como co-fator a tetraidroxipterina (pteridina reduzida). A DOPA é convertida, por sua vez, em DA pela DOPA descarboxilase (a qual é uma descarboxilase que atua sobre aminoácidos aromáticos), e assim, finalmente, é formado NA pela enzima dopamina-beta-hidroxilase e, para a síntese de A, a molécula de NA é metilada à A através da feniletanolamina *N*-metiltransferase (GREENSPAN & GARDNER 2001) (Figura 1).

Já a regulação desta biossíntese se dá sobre dois sítios. O primeiro encontra-se na TH, enzima que é regulada por dois mecanismos: DA, NA e A a inibem, inibindo competitivamente o seu co-fator, o que possibilita que o excesso de catecolaminas possa frear sua própria síntese (GREENSPAN & GARDNER 2001). O outro estímulo, o qual também é regulatório, consiste na indução da síntese desta enzima após o aumento da atividade granular, mediante estimulação dos nervos esplâncnicos (DE NICOLA 2004). Sabe-se que os níveis plasmáticos destes hormônios podem estar aumentados até 4 horas após a situação que provocou o estímulo para este aumento (DESPOPOULOS & SILBERNAGL 1991).

As catecolaminas se acumulam em vesículas citoplasmáticas chamadas de grânulos de depósito (DE NICOLA 2004). No interior dos grânulos, elas permanecem ligadas à ATP, o que impede sua degradação pela enzima monoamina oxidase. Já a liberação destes compostos derivados de aminoácidos ocorre pela estimulação esplâncnica, que libera acetilcolina nos terminais nervosos das células cromafins. Com sua união a receptores nicotínicos provoca a despolarização dessas células. Com isto há um aumento da permeabilidade ao Ca^{2+} , que é responsável pela saída de catecolaminas dos grânulos. Como a membrana dos grânulos acopla-se à membrana plasmática, após a fusão de ambas, o conteúdo granular é liberado no sangue (DE NICOLA 2004; GREENSPAN & GARDNER 2001).

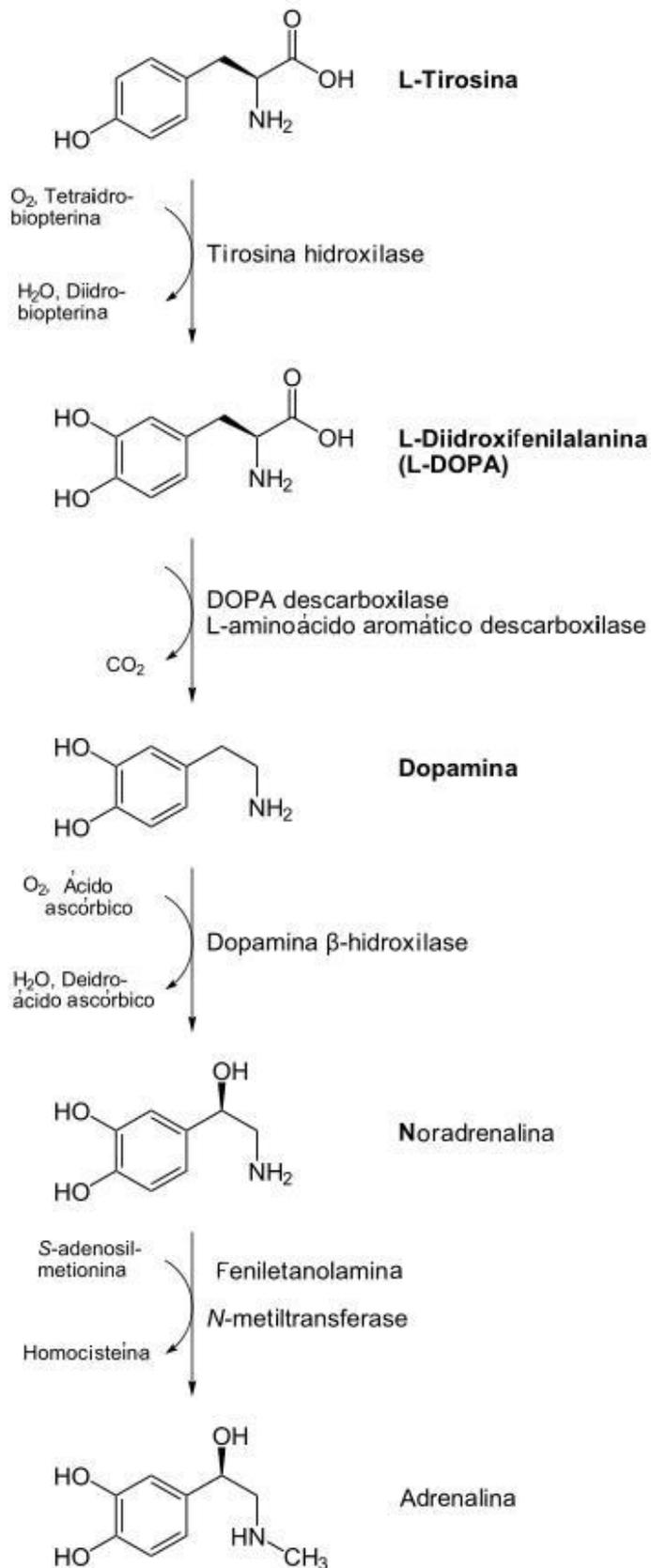


Figura 1 – Síntese das catecolaminas a partir do aminoácido tirosina (GREENSPAN E GARDNER 2001).

Sobre sua regulação medular da secreção das catecolaminas, existem estímulos exercidos diretamente na glândula ou via inervação esplâncnica (DE NICOLA 2004):

1. Via centros nervosos: mesmo que não tenha se localizado um centro cortical cerebral, a estimulação de certas áreas corticais aumenta ou inibe a secreção de catecolaminas pela medula supra-renal, tanto pela regulação dos centros hipotalâmicos, como por fibras descendentes para a medula espinal.
2. Substâncias endógenas: entre substâncias estimulantes encontram-se a histamina, bradicinina e a angiotensina II.
3. Condições fisiológicas ou patológicas:
 - a) estados emocionais que causam estresse como ira, medo, ansiedade, entre outros;
 - b) exposição da pele ou mucosas a condições extremas de frio ou calor excessivo (queimaduras);
 - c) alcalose ou acidose respiratória, provavelmente agindo via SNC;
 - d) estresse físico, como ocorre no exercício;
 - e) asfixia e anoxia, além de produzirem efeitos diretamente no SNC, podem afetar diretamente a medula supra-renal;
 - f) hipoglicemia, por excitação dos centros hipotalâmicos secretores de A, produz uma descarga hormonal suficiente para elevar a glicemia através da glicogenólise hepática, ou também pela ativação secreção de glucagon que estimula diretamente a secreção de A;
 - g) hipotensão arterial, detectada pelos receptores do arco aórtico e dos seios carotídeos e das zonas sensíveis destes vasos, provocando a secreção reflexa de A; contrariamente a hipertensão é acompanhada inibição da secreção de A;
 - h) excitação de nervos sensitivos e estímulos dolorosos por ação reflexa estimulam a secreção de A;
 - i) Algumas drogas, como anestésicos, morfina, nicotina, entre outros.

As ações fisiológicas das catecolaminas e o papel da medula supra-renal estão implicados em diversas regulações. A regulação fisiológica, via catecolaminas (A e NA), é mediada pelos nervos sinápticos e pela medula supra-renal. O sistema simpático tem como principal intermediário a NA, cuja principal função é manter o sistema vasomotor e a pressão arterial (DESPOPOULOS & SILBERNAGL 1991). Por outro lado, a medula tem como fator preponderante a A que age à distância sobre o organismo regulando diversos dos exemplos citados anteriormente (DE NICOLA 2004).

São encontrados dois tipos de receptores específicos às catecolaminas, nos tecidos: receptores α e β (DE NICOLA 2004; DA POIAN & CARVALHO-ALVES 2002; DESPOPOULOS & SILBERNAGL 1991; GREENSPAN & GARDNER 2001). Os α subdividem-se em α_1 e α_2 , enquanto são conhecidos três tipos β : β_1 , β_2 e β_3 (DA POIAN & CARVALHO-ALVES 2002) os quais pode-se verificar seus efeitos fisiológicos e os tecidos em que são localizados, ordenados na Tabela 1. Os β acoplam-se a proteínas G na membrana e estimulam a adenilato ciclase, que, por sua vez, forma AMP cíclico (AMPC), como segundo mensageiro. Isto acaba por ativar a proteína-quinase A (PKA), que desencadeia fosforilações protéicas nestes tecidos (GREENSPAN & GARDNER 2001). Existe um tipo de receptor β_2 pré-sináptico, que estimula a saída de um novo neurotransmissor. O contrário acontece num tipo de α_2 , que acaba por estimular uma proteína G que inibe a adenilato ciclase, inibindo a saída de um novo neurotransmissor. Os receptores α_1 pós-sinápticos estão acoplados a proteína G_q , que estimula a fosfolipase C, a qual degrada o fosfatidilinosito-4,5-bifosfato (PIP_2) em seus produtos: diacilglicerol (DAG) e inositol-4,5-trifosfato (IP_3). Por conseguinte, o DAG estimula a liberação de proteína-quinase C e o IP_3 estimula a entrada de cálcio (Ca^{2+}) do retículo endoplasmático. O Ca^{2+} se liga à calmodulina, provocando a ativação de proteínas cinases dependente da cálcio-calmodulina (DE NICOLA 2004; GREENSPAN & GARDNER 2001).

Os receptores de catecolaminas, através de suas interações ajudam a explicar o efeito da taquifilaxia, caracterizada pela perda ou menor expressão da resposta biológica após administração intensa ou prolongada de catecolaminas. Ocorre uma dessensibilização do tecido devido a uma internalização dos receptores da membrana plasmática para o interior da célula (DE NICOLA 2004).

Tabela 1 – Diversos tecidos responsivos a catecolaminas e suas respectivas reações fisiológicas (DE NICOLA 2002; GREENSPAN & GARDNER 2001).

<i>Tecido</i>	<i>Respostas às catecolaminas</i>	<i>Tipo de receptor</i>
Coração	Maior contratilidade	β_1
	Maior velocidade de condução	
	Aumento da frequência cardíaca	
Fígado	Glicogenólise	β_2, α_1
	Gliconeogênese	α
Rim	Gliconeogênese	α_1
	Aumento da secreção de renina	β_1, β_2
Brônquios	Dilatação	β_2
Músculo esquelético	Aumento da transmissão neuromuscular	α_1
Vasos sanguíneos	Dilatação de artérias	β_2
	Constricção de artérias	α_1
	Venoconstricção	α_2
Tecido adiposo	Lipólise	$\beta_1, \beta_2, \beta_3$
Trato gastrointestinal	Menor motilidade	β_2
	Contração de esfíncteres	α
Pupila	Contração do músculo dilatador;	α_1
Pâncreas	Redução da secreção de insulina	α_2
	Aumento da secreção de insulina	β

Já o SNC não é influenciado diretamente pelas catecolaminas circulantes devido a sua impermeabilidade à barreira hematoencefálica. Com isto, os sintomas e sinais sobre o sistema nervoso são secundários às modificações cardiovasculares e metabólicas produzidas pelas catecolaminas (VOGT 1954).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Questões de Pesquisa

Não foram encontrados estudos na literatura sobre a relação da fenilcetonúria com o exercício físico e catecolaminas. Desse modo, não é possível determinar se indivíduos com essa doença, tratados precocemente, porém com dieta não controlada corretamente, submetidos a exercício aeróbico, apresentam aumento significativo nas concentrações supra-renais de catecolaminas em relação a indivíduos não exercitados. A condição de hiperfenilalaninemia dos ratos a serem estudados, simula o perfil do indivíduo fenilcetonúrico não tratado ou que não segue estritamente seu tratamento dietético.

3.2 População e Amostra

Desenho experimental em modelo animal, utilizando amostra aleatória.

3.3 Definição das Variáveis

3.3.1 Conceitual

- Ratos com hiperfenilalaninemia (HPA): ratos Wistar com idade de 15 dias, com aumento da concentração da fenilalanina plasmática induzida pela administração do inibidor da enzima PAH, α -MP ($1,6 \mu\text{mol.g}^{-1}$), concomitante a doses de fenilalanina ($2,1 \mu\text{mol.g}^{-1}$) em injeções duas vezes ao dia, durante 17 dias (adaptado de HAGEN et al. 2002).
- Exercício: 14 dias de corrida em esteira rolante em intensidade aeróbica, com duração de 20 minutos (SCOPEL et al. 2006; CECHETTI et al. 2008).
- Catecolaminas: hormônios sintetizados nas glândulas supra-renais, mensurado pelo método de fluorescência do triidroxindol (KELNER et al. 1986), onde as catecolaminas reagem com ferricianeto de potássio na presença de tampão, sendo interrompida por ácido ascórbico.

3.3.2 Operacional

- O modelo de hiperfenilalaninemia utilizado tem como intenção mimetizar o aumento da concentração plasmática de fenilalanina do indivíduo com fenilcetonúria não tratado.
- O exercício físico proposto teve como característica ser predominantemente aeróbico (SCOPEL et al. 2008).

3.3.3 Dependente

- Concentração catecolaminas nas glândulas supra-renais.

3.3.4 Independentes

- Concentração de fenilalanina no sangue e tecidos dos grupos HPA.
- Intensidade relativa do exercício.

3.4 Instrumentos de Pesquisa

- Materiais

Esteira motorizada para roedores

Centrífuga para microtúbulos

Espectrofotofluorímetro

- Métodos

Foram utilizados 20 ratos Wistar com 15 dias de vida, procedentes do Departamento de Bioquímica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Sendo que a autorização da utilização de animais por este departamento precede que o experimento destinado já esteja de acordo com o Comitê de Ética Animal, tudo foi realizado dentro das normas específicas.

Os animais foram alojados em gaiolas com suas respectivas ninhadas (três) e tiveram mensurada a massa corporal total durante todos os dias até o experimento,

sendo também marcados na cauda com caneta colorida, para identificar a qual dos quatro grupos abaixo pertenciam:

- Sedentário Salina (SedSAL) – ratos que receberam salina, n=6;
- Sedentário HPA (SedHPA) – ratos com hiperfenilalaninemia, n=6
- Exercício Salina (ExeSAL) – ratos saudáveis que foram exercitados n=4;
- Exercício HPA (ExeHPA) – ratos com hiperfenilalaninemia que foram exercitados n=4.

As gaiolas continham ratos de diferentes grupos, com ração e água ofertados livremente. As gaiolas permaneciam sempre na mesma sala climatizada, com ciclo claro-escuro de 12:12 horas.

Para mimetizar a condição de fenilcetonúria, com pouco controle da dieta alimentar, o modelo proposto por Hagen et al. (2002) foi utilizado, com um aumento de dias de intervenção, adaptando o modelo crônico para a doença. Assim a partir do 15º dia de vida, até o dia que precedeu o último dia de experimento, os ratos dos grupos HPA (SedHPA e ExeHPA) receberam, às 9 horas, uma injeção subcutânea de α -metil-fenilalanina e fenilalanina, nas doses de $1,6 \mu\text{mol.g}^{-1}$ e $2,1 \mu\text{mol.g}^{-1}$ respectivamente, e, após 8 - 9 horas, receberam uma injeção de fenilalanina na mesma concentração da anterior. Enquanto os grupos Salina (SedSAL e ExeSAL) receberam solução salina nas mesmas proporções e horários dos grupos HPA. Todas as injeções apresentavam volume total de $10 \mu\text{L}$ por grama de massa corporal, $\text{pH} \cong 7,4$ e foram aplicadas com seringas de 1 mL com agulha $13 \times 4,5 \text{ mm}$.

A partir do 18º dia de vida, os ratos dos grupos dos grupos sedentários permaneceram em suas gaiolas enquanto os dos grupos exercitados realizaram o protocolo de exercício uma hora após a segunda injeção do dia, os quais já haviam sido ambientados à esteira rolante motorizada durante cinco minutos nos três dias que antecederam o início do treinamento descrito a seguir:

- 5 minutos de aquecimento;
- 20 minutos na velocidade média de 12 m.min^{-1} .

A esteira rolante motorizada utilizada é propícia para roedores (Insight EP 131), com seis raias limitadas por paredes acrílicas, com os marcadores de tempo e de distância percorrida (em metros) digitais.

No dia seguinte, após o décimo quarto dia de exercício, quando os ratos completaram 32 dias de vida, houve o sacrifício dos animais por decapitação sem

anestesia, os quais tiveram as glândulas supra-renais removidas rapidamente, limpas (retirada do tecido adiposo e vasos sanguíneos superficiais) e suas massas mensuradas. Após isto, foram homogeneizadas com a solução ácido acético (CH_3COOH) na diluição de 10%. O produto foi colocado em microtúbulos para centrifugação durante um minuto à velocidade de 10000 G e temperatura de 4°C (sempre utilizando a centrífuga Eppendorf Centrifuge 5417R). Então, o sobrenadante foi utilizado para a realização da técnica de mensuração de catecolaminas por fluorimetria (baseado na técnica de KELNER et al. 1986), por meio de leitura única no aparelho de espectralofluorimetria (Molecular Devices – Spectra Max Gemini XPS), com excitação de 420 nm e emissão de 510 nm. Para análise da leitura da fluorescência obtida na amostra, foi obtida uma curva padrão de A (Sigma) nas concentrações de 0, 25, 50, 100, 150, 200 e 250 μM .

3.5 Processamento de Dados

Com a equação da reta de regressão linear obtida por meio dos valores da curva de A, foi calculada a concentração de catecolaminas nas amostras:

$$y = ax + b$$

Onde:

y = fluorescência da amostra

x = concentração A (μM)

a = coeficiente angular

b = intercepto (valor de y para concentração 0 μM de catecolaminas)

Assim, os valores de leitura espectralofluorimétrica foram transformados em concentração, em μM , de catecolaminas e, com a utilização do peso molecular da A utilizada para a curva ($\text{PM} = 333,3 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$), os valores foram convertidos em quantidade total, em μg , de catecolaminas por glândulas.

3.6 Procedimentos Estatísticos

Primeiramente, verificou-se a normalidade dos dados através do teste de Shapiro-Wilk e a homogeneidade das variâncias pelo teste de Levene. Após, foi realizada uma análise de variância (ANOVA) de dois fatores: doença (SAL e HPA) e treinamento (Sed e Exe), complementando com *post-hoc* de Tukey. Os valores-p significativos foram considerados a 5% de significância ($\alpha = 0,05$). Foi utilizado o software SPSS versão 14.0 para Windows.

4 RESULTADOS

Ao analisarmos a concentração de catecolaminas nas glândulas supra-renais, foram encontradas diferenças significativas entre os grupos SedHPA e ExeHPA como entre SedHPA e SedSAL ($p < 0,05$), para as médias expostas na Figura 2.

O protocolo de exercício físico aplicado levou ao significativo aumento nos níveis de catecolaminas das glândulas supra-renais do grupo ExeHPA em relação ao SedHPA. Também foi observado uma diminuição nos níveis catecolaminérgicos do Grupo SedHPA quando comparado ao SedSAL. Com isto pôde-se observar que o exercício propiciou um aumento significativo no conteúdo catecolaminérgico das glândulas supra-renais dos ratos hiperfelinaninêmicos treinados, quando comparado com os seus controles.

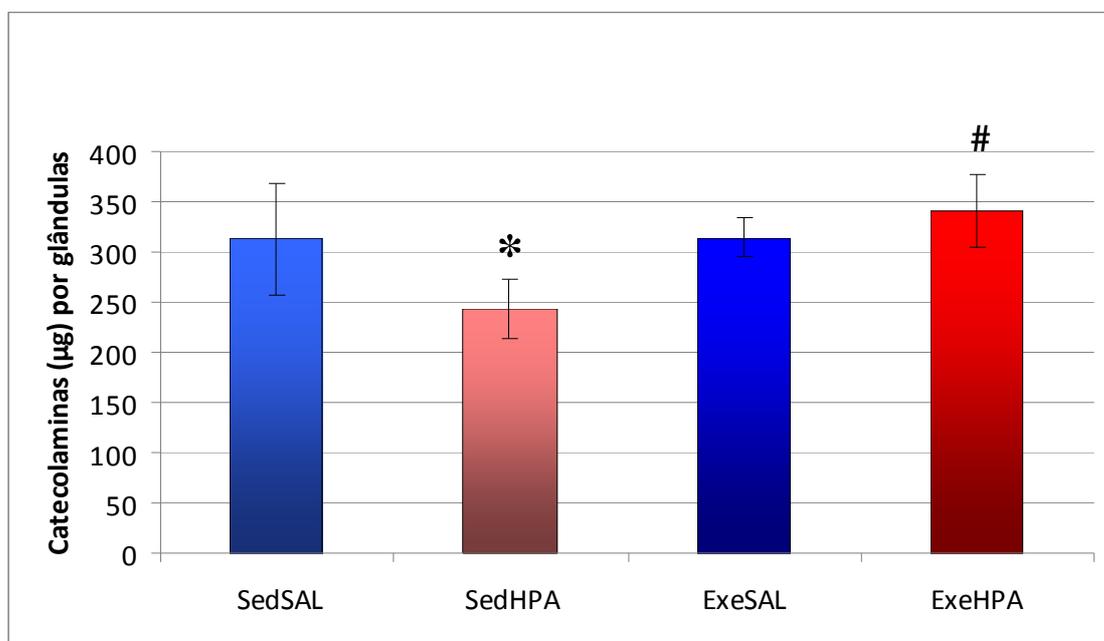


Figura 2 – Conteúdo total de catecolaminas nas supra-renais (μg por glândulas) dos ratos sedentários (Sed) e exercitados (Exe) que receberam salina (SAL) ou modelo hiperfelinaninemia (HPA), $n=4-6$ por grupo. Resultados expressos em média \pm DP. * indica diferença de SedSAL ($p=0,036$); # indica diferença de SedHPA ($p=0,007$) verificadas por ANOVA de duas vias com post hoc de Tukey ($\alpha=0,05$).

5 DISCUSSÃO

Ao se utilizar o modelo de hiperfenilalaninemia (HAGEN 2002), pôde-se observar a influência nos níveis de catecolaminas sobre o grupo sedentário analisados, o que era esperado devido à mimetização da fenilcetonúria. Como a ocorrência da hiperfenilalaninemia é acarretada pela não conversão de fenilalanina à tirosina, devido à inibição da enzima PAH pela ação da α -MP (TAYLOR 1983), e os animais não foram submetidos a uma dieta carente de fenilalanina, conseqüentemente, mesmo não tendo sido mensurada, uma diminuição nos níveis de tirosina deve ter ocorrido. Por conseguinte, com a carência do aminoácido precursor das catecolaminas, era de se esperar a diminuição nos níveis das mesmas, como já fora descrito em estudos anteriores (SCHULPIS et al. 2005). Logo, maiores concentrações de fenilalanina plasmática, as quais devem proporcionar uma maior captação da mesma pelas glândulas supra-renais com relação à tirosina (SCHULPIS et al. 2005), podem ser o motivo que levou a uma diminuição da síntese de catecolaminas pelas glândulas dos grupos deste modelo que não foram submetidos a treinamento, quando comparados aos treinados e também ao controle sedentário.

Como se esperava que o exercício físico regular e controlado pudesse ser um estímulo para a reversão no quadro de depleção desses hormônios nessa população, foram utilizados como embasamento teórico principalmente três estudos. Um deles foi o de Kjær (1997), o qual encontrou uma maior concentração de catecolaminas nas glândulas supra-renais, em ratos submetidos a treinamento físico crônico. Outro foi de Ulrich-Lai et al. que, em 2006, submeteu ratos a estresse crônico durante 14 dias e encontrou hipertrofia da medula supra-renal dos mesmos, o que poderia ser resultante de um aumento nos níveis hormonais deste tecido. Por fim, Tümer et al. (2001), os quais controlaram a intensidade, duração e frequência do exercício, observaram um aumento no RNAm da enzima TH. A partir destes trabalhos, foi desenhado o protocolo de treinamento regular em ratos com hiperfenilalaninemia induzida, procurando ter o controle sobre estes fatores (intensidade, duração e frequência), com o intuito de observar a influência do mesmo sobre os níveis catecolaminérgicos de suas glândulas supra-renais.

Como foi apresentado nos resultados, os 14 dias de treinamento aeróbico, ao qual foram submetidos os ratos do grupo Exe, foram suficientes para provocar um aumento significativo nos níveis de catecolaminas das glândulas supra-renais do grupo

hiperfenilalaninêmico quando comparado ao mesmo grupo sedentário. Este resultado vai ao encontro dos estudos de Kjær, 1997, o qual analisou estes parâmetros em ratos saudáveis, neste caso durante 10 semanas de treinamento físico.

Apesar de não esclarecido o mecanismo de aumento desses níveis hormonais nas glândulas, uma maior ativação do sistema nervoso simpático pelo exercício físico (ÅSTRAND 2006) pode ter proporcionado um estímulo suficiente para, mesmo com menores níveis de tirosina circulante e conseqüentemente intracelular, provocar um aumento na síntese das catecolaminas. Para isto, existem possíveis explicações para os resultados deste estudo. Uma delas seria que o exercício regular e controlado poderia ter proporcionado um aumento na expressão da enzima TH. Isto iria ao encontro dos achados de Tümer et al. (2001) os quais encontraram um aumento no RNAm da enzima TH, após expor roedores a treinamento físico controlado em esteira. Outro fator que poderia ter influenciado no possível no aumento da expressão de TH, seria o aumento nos níveis de angiotensina II proporcionados pelo exercício físico (MARTINELLI et al. 2010). Dogan et al. (2004) já observaram que quantidades aumentadas de angiotensina II acarretam um aumento do RNAm da enzima TH.

Além disso, um aumento de alguma das outras enzimas da via de síntese de catecolaminas poderia também provocar uma maior produção destes hormônios. Portanto, a forma como o exercício proporcionou uma modulação para o aumento de catecolaminas nas supra-renais do modelo de hiperfenilalaninemia não está clara, o que abre possibilidades para novos estudos serem realizados.

6 CONCLUSÃO

O presente estudo obteve resultados os quais demonstraram a possibilidade de o exercício físico aeróbico regular ser uma estratégia interessante para restaurar a concentração de catecolaminas nas glândulas supra-renais em ratos no estado hiperfenilalaninêmico. Não foram encontrados estudos que relacionassem exercício aeróbico com indivíduos hiperfenilalaninêmicos e seus níveis catecolaminérgicos na literatura científica. Com isso, mais pesquisas devem ser realizadas para a comprovação da utilização de exercício físico aeróbico na condição de hiperfenilalaninemia, característica do indivíduo fenilcetonúrico. Isso pode ser importante no caso de pacientes não seguidores assíduos de sua dieta restrita como estratégia na elevação nos níveis de catecolaminas supra-renais.

7 REFERÊNCIAS

ÅSTRAND, P.; RODAHL, KAARE; DAHL, H. A.; STROMME, S. B. **Tratado de Fisiologia do Trabalho: Bases Fisiológicas do Exercício**, 4ª Edição; BRA: 2006.

BUNT, J.C. Hormonal alterations due to exercise. **Sports Medicine**. v. 03, (1986), p. 331.

BROOKS, S.; BURRIN, J.; CHEETHAM, M.E.; HALL, G.M.; YEO, T.; WILLIAMS, C. The Responses of The Catecholamines and β -endorphin to Brief Maximal Exercise in Man. **European Journal of Applied Physiology**. v. 57, (1988), 230.

BURTON, H.; SHUTTLEWORTH, A. Genetics education for primary health care nurses, **Primary Health Care** 13 (4) (2003), pp. 35 – 38.

CECHETTI F., FOCHESSATO C., SCOPEL D., NARDIN P., GONÇALVES C. A., NETTO C. A., SIQUEIRA I. R. Effect of a neuroprotective exercise protocol on oxidative state and BDNF levels in the rat hippocampus. **Brain Research**. (2008) 1188:182-8.

COSTA J.V.; DUARTE J.S. Tecido adiposo 18. e adipocinas. **Acta Médica Portuguesa** (2006);19(3):251 – 256.

CONTARTEZE, R. V. L.; MANCHADO F. DE B.; GOBATTO, C. A.; DE MELLO, M. A. R. Biomarcadores de estresse em ratos exercitados por natação em intensidades igual e superior à máxima fase estável de lactato; **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, Vol. 13, Nº 3 – Mai/Jun (2007).; 169 – 174.

DA POIAN, A. T.; DE CARVALHO-ALVES, P. C. **Hormônios e Metabolismo: Integração e Correlações Químicas**, BRA: Atheneu, 2002.

DE NICOLA, A. F. Fisiologia da Medula Supra-renal; em: *Endocrinologia: Princípios Gerais*, GAGLIARDINO, J. J.; CINGOLANI, H. E. **Fisiologia Humana de Houssay**, BRA: Artmed, 2004.

DESPOPOULOS, A.; SILBERNAGL, S.; **Color Atlas of Physiology**, 4th Edition, EUA: Thieme, 1991.

DOGAN M. D.; SUMNERS C.; BROXSON C. S.; CLARK N.; TÜMER N. Central angiotensin II increases biosynthesis of tyrosine hydroxylase in the rat adrenal medulla, **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 313, (2004), 623–626.

ERDÖS, B.; BROXSON, C. S.; LANDA, T.; SCARPACE, P. J.; LEEUWENBURGH, C., ZHANG, Y.; TÜMER, N. Effects of life-long caloric restriction and voluntary exercise on age-related changes in levels of catecholamine biosynthetic enzymes and angiotensin II receptors in the rat adrenal medulla and hypothalamus; **Experimental Gerontology**, 42 (2007) 745 – 752.

FERNSTROM, J. D.; FERNSTROM, M. H. Tyrosine, Phenylalanine, and Catecholamine Synthesis and Function in the Brain; **American Society for Nutrition**, 137:1539S-1547S, June (2007); 2010.

FILAIRE, E.; DUCHE, P.; LAC, G.; ROBERT, A. Saliva cortisol, physical exercise and training: influences of swimming and handball on cortisol concentrations in women. **European Journal of Applied Physiology**. (1996);74(3):274 – 8.

GALBO, H. **Hormonal and metabolic adaptations to exercise**. New York: Thieme Verlag.1983.

GREENSPAN, F. S.; GARDNER, D. G. **Basic & Clinical Endocrinology**, 6th Edition, EUA: Lange, 2001.

GÜTTLER, F.; LOU, H. Dietary problems of phenylketonuria: effect on CNS transmitters and their possible role in behaviour and neuropsychological function. **Journal of Inherited Metabolic Disease**. Vol. 9, N° 2 (1986), pp. 169 – 177.

GUYTON, M. D. **Fisiologia Humana**. Tradução C. Alfred Esberard. 6° ed. BRA: 1988.

HAGEN, M. E. K.; PEDERZOLLI, C. D.; SGARAVATTI, A. M.; BRIDI, R.; WAJNER, M., WANNMACHER, C. M. D.; WYSE, A. T. S.; DUTRA-FILHO, C. S. Experimental hyperphenylalaninemia provokes oxidative stress in rat brain; **Biochimica et Biophysica Acta**, (2002), 1586,344 – 352.

HARDING, C. O. New era in treatment for phenylketonuria: Pharmacologic therapy with sapropterin dihydrochloride; **Biologics: Targets & Therapy**, August (2010), Volume 2010:4, 231 – 236.

HERRERO, E.; ARAGON, M.C.; GIMENEZ, C.; VALDIVIESO, F. Inhibition by L-phenylalanine of tryptophan transport by synaptosomal plasma membrane vesicles: implications in the pathogenesis of phenylketonuria. **Journal of Inherit Metabolic Disease**. Vol. 6, N° 1 (1983), pp. 32 – 35.

KELNER K. L.; MORITA, K. Y. I.; ROSSEN, J. S.; POLLARD, H. B. Restricted diffusion of tyrosine hydroxylase and phenylethanolamine N-methyltransferase from digitonin-permeabilized adrenal chromaffin cells; Vol. 83, (1986), 2998 – 3002.

KVETNANSKY, R.; FUKUHARA, K.; PACAK, K.; CIZZA, G.; GOLDSTEIN, D.S.; KOPIN, I. J. Endogenous glucocorticoids restrain catecholamine synthesis and release at rest and during immobilization stress in rats. **Endocrine Society**, Vol 133, (1993), 1411 – 1419.

KJÆR, M. Adrenal medulla and exercise training. **European Journal of Applied Physiology**, (1998) 77: 195 – 199.

KOCH, R.; MOSELEY, K. D.; YANO, S.; NELSON, M. Jr.; MOATS, R.A. Large neutral amino acid therapy and phenylketonuria: a promising approach to treatment. **Molecular Genetics and Metabolism**. Vol. 70, N. 2, (2003), 110 – 113.

LEHMANN, M; KAPP, R; HIMMELSBACH, M; KEUL, J. Time and intensity dependent catecholamine responses during graded exercise as an indicator of fatigue and exhaustion. In. KNUTTGEN, H.G; VOGEL, J.A; POORTMANS, J. **Biochemistry of Exercise**. Ed.:Human Kinetics Publishers, Champaign, 1983.

McMURRAY, R.G.; HACKNEY, A.C. Respostas endócrinas ao exercício e ao treinamento. In.: GARRETT, W.E; KIRKENDALL, D.T et al. **A ciência do exercício e dos esportes**. Ed. Art Med. Porto Alegre, 2003.

MAFRA, D., FARAGE, N.E. O papel do tecido adiposo na doença renal crônica. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**. (2006); 28(2):108 – 113.

MARTINELLI B.; BARRILE S. R.; ARCA E. A.; FRANCO R. J. S.; MARTIN L. C. Influência do exercício aeróbio na renina de portadores de hipertensão arterial com sobrepeso, **Arquivos brasileiros de cardiologia**, 2010, 95(1):91-98.

MICHAEL, D. L. N.; COX, M. **Lehninger Principles of Biochemistry**, 5th Edition, EUA: W. H. Freeman, 2008.

MILOVANOVIĆ, D.D.; MILOVANOVIĆ, L.; VRANJESEVIĆ, D. Serum tryptophan to large neutral amino acid ratio and urinary tryptophan in three patients with phenylketonuria in a family. A clinical and biochemical study. **Advances in Experimental Medicine and Biology**. Vol. 467 (1999), pp. 289 – 295.

PASSIAS, T. C.; MENEILLY, G. S.; MEKJAVIB, I. B. Effect of hypoglycemia on thermoregulatory responses. **Journal of Applied Physiology**. (1996), 80(3): 1021 – 1032.

SCHULPIS, K. H.; PAPAKONSTANTINOY, E. D.; TZAMOURANIS, J. Plasma Leptin Concentrations in Phenylketonuric Patients Institute of Child Health, 'Aghia Sophia' Children's Hospital, Athens, Greece; **Hormone Research**, (2000); 53:32 – 35.

SCHULPIS, K. H.; PAPASSOTIRIOY, I.; VOUNATSOY, M., KARIKAS, G. A.; TSAKIRIS, S.; CHROUSOS, G. P. Morning Preprandial Plasma Ghrelin and Catecholamine Concentrations in Patients with Phenylketonuria and Normal Controls: Evidence for Catecholamine-Mediated Ghrelin Regulation; **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**. (2004), 89: 3983 – 3987.

SCHULPIS, K. H.; PAPASSOTIRIOY, I.; TSAKIRIS, S.; VOUNATSOY, M.; CHROUSOS, G. P. Increased plasma adiponectin concentrations in poorly controlled patients with phenylketonuria normalize with a strict diet: evidence for catecholamine-mediated adiponectin regulation and a complex effect of phenylketonuria diet on atherogenesis risk factors; **Metabolism Clinical and Experimental**. (2005), 54, 1350 – 1355.

SCOPEL D., FOCESATTO C., CIMAROSTI H., RABBO M., BELLÓ-KLEIN A., C. SALBEGO, NETTO C. A.,SIQUEIRA I. R. Exercise intensity influences cell injury in rat hippocampal slices exposed to oxygen and glucose deprivation, *Brain Research Bulletin*, 71 (2006) 155 – 159.

SMILIOS, I.; PILIANIDIS, T.; KARAMOUZIS, M.; TOKMAKIDIS, S.P. Hormonal responses after various resistance exercise protocols. **Medicine & Science in Sports & Exercise**. (2002); 35(4):644 – 54.

SURTEES, R.; BLAU, N. The Neurochemistry of Phenylketonuria. **European Journal Pediatric**. (2000), 109 – 113.

TAYLOR, E.H.; HOMMES, F.A.; STEWART, D.E. Effect of experimental hyperphenylalaninemia on biogenic amine synthesis at later stages of brain development. **Biochemical Medicine**. Vol. 29, N. 3 (1983), pp. 307 – 317.

TUMER N.; BROXSON C.S.; LAROCHELLE J.S.; SCARPACE P.J. Induction of tyrosine hydroxylase and neuropeptide Y by carbachol: modulation with age. **The journals of gerontology. Series A, Biological sciences and medical sciences**. 54 , (1999), B418-B423.

TÜMER N.;DEMIREL H. A.; SEROVA L.; SABBAN E. L.; BROXSON C. S.; POWERS S. K. Gene expression of catecholamine biosynthetic enzymes following exercise: modulation by age, **Neuroscience**, Vol. 103, No. 3, (2001), pp. 703 – 711

VILARINHO L, QUEIROS A, LEANDRO P, ALMEIDA IT, RIVERA I. Fenilcetonúria Revisitada. **Arquivos de Medicina**; (2006), 20 (5-6): 161 – 172.

ULRICH-LAI, Y. M.; FIGUEIREDO, H. F.; OSTRANDER, M. M.; CHOI, D. C.; ENGELAND, W. C.; HERMAN, J. P. Chronic stress induces adrenal hyperplasia and hypertrophy in a subregion-specific manner; **American Journal of Physiology - Endocrinology And Metabolism**. (2006), 291: E965 – E973.

VOGT, M. The Concentration of sympatin in different parts of the central nervous systems under normal conditions and after administration of drugs. **Journal Physiology**. (1954), 177, 44 – 45.

WIDAMAN, K. Phenylketonuria in Children and Mothers: Genes, Environments, Behavior. **Current Directions in Psychological Science**. (2009), 18(1): 48. 1467 – 8721.