

O PADRÃO COMPORTAMENTAL DE RATOS SUPLEMENTADOS COM AMINOÁCIDO LEUCINA

Carolina Barbosa Ribeiro¹,
Sergio Henrique Borin²,
Carlos Alberto da Silva³

RESUMO

Suplementação com aminoácidos ramificados vem se difundindo largamente entre praticantes de atividades físicas. Estudos sugerem o desenvolvimento de fadiga central durante atividade, sua correlação serotoninérgica cerebral e a leucina. Objetivo deste trabalho foi avaliar através dos testes de campo aberto e labirinto em cruz elevado, o comportamento de ratos suplementados com três doses distintas de leucina. Foram utilizados ratos Wistar distribuídos em grupos: controle (C), leucina 0,30 (L0,30), 1,25 (L1,25) e 5 (L5) (mM/100g), suplementados através da via orogástrica. Para análise estatística foi utilizado variância seguido do teste de Tukey ($p < 0,05$). No comportamento exploratório foi observado que os ratos L0,30 não diferiram do C, já os grupos L1,25 e L5, obtiveram redução. No labirinto em cruz elevado o grupo C comparado com o L0,30 e L1,25 não obtiveram diferença, o grupo L5 diferiu dos demais. Os resultados sugerem à existência de alterações fisiológicas e comportamentais ligadas a suplementação com leucina.

Palavras-chave: Leucina; Fadiga; Atividade Motora; Comportamento.

ABSTRACT

The mannering standard of rats supplemented with amino acid leucine

Supplementation with branched chain amino acids has been disseminated widely among practitioners of physical activities. Studies suggest the development of central fatigue during activity, its correlation brain serotonin and leucine. Purpose of this study was to evaluate through tests of open field and elevated plus-maze, the behavior of rats supplemented with three different doses of leucine. Wistar rats were divided into groups: control (C), leucine 0.30mM/100g (L0,30), 1.25mM/100g (L1,25) and 5mM/100g (L5), supplemented via oral gavage. For statistical analysis, variance followed by Tukey test ($p < 0.05$). The exploratory behavior was observed that rats L0,30 did not differ from C and the groups L1,25 and L5, showed a reduction. In the elevated plus-maze group C compared with L0,30 and L1,25 did not get the difference, the L5 group differed from the others. The results suggest the existence of physiological and behavioral changes related to supplementation with leucine.

Key words: Leucine, Fatigue, Motor Activity, Behavior

- 1- Mestre em Fisioterapia e Docente do Programa de Pós-graduação em Fisioterapia Desportiva - UNIMEP - Piracicaba/SP - Brasil
- 2- Coordenador da Pós-graduação em Fisioterapia Desportiva - UNIMEP - Piracicaba/SP - Brasil
- 3- Docente do Programa de Pós-graduação em Fisioterapia - UNIMEP - Piracicaba/SP - Brasil

E-mail:
carolribeiro_fisio@yahoo.com.br

Endereço para correspondência:
Ft. Ms. Carolina Barbosa Ribeiro
Rua Maria Tarsia nº51 apto81,
Ed. Larian, Jd. Elite
CEP:13.417-440, Fone: (19) 3426.9761

INTRODUÇÃO

A utilização de suplementação com aminoácidos vem se difundindo largamente entre os praticantes de atividades físicas, no entanto, desde a década de 90, tem sido descrito o papel dos aminoácidos ramificados (leucina, isoleucina e valina; BCAA), no perfil metabólico da musculatura esquelética durante o exercício, sendo ressaltado a contribuição da oxidação destes para o fornecimento de energia (Hood e Terjung, 1990).

Apesar dos incontestáveis benefícios inerentes aos BCAAs, alguns estudos desenvolvidos a partir da suplementação sugerem o desenvolvimento de fadiga central durante atividade de curta e longa duração e sua relação com a função serotoninérgica cerebral (Gomes e Tirapegui, 2000; Jin e colaboradores, 2009). Este tipo de fadiga seria causado por mudanças nas relações entre a disponibilidade de BCAA e a captação do triptofano na barreira hematoencefálica, sendo descrito competição entre os aminoácidos, de forma que, aquele que estiver em maior concentração é transportado preferencialmente para o interior do líquido cefalorraquidiano e conseqüentemente elevando a disponibilidade ao encéfalo (Newsholme e Blomstrand, 2006; Kazapi e Tramonte, 2003).

Mais recentemente foi sugerido que dentre os aminoácidos que compõem o BCAA, a leucina, atua como limitador na captação do triptofano no sistema nervoso central, promovendo redução na síntese de serotonina (Othani e colaboradores, 2006; Wu, 2009).

Os níveis de serotonina cerebrais estão relacionados a alterações de comportamento e humor, ansiedade, agressividade, depressão, sono, fadiga, supressão de apetite, etc. Os mecanismos bioquímicos precisos pelos quais os neurônios serotoninérgicos controlam estas funções ainda não estão totalmente esclarecidos (Davis, 1995, 2000).

Tem sido obtido tanto em humanos como em animais (ratos e macacos), evidências de que a síntese de serotonina cerebral possa ser modulada dieteticamente através da oferta de macronutrientes, destacando-se principalmente a ingestão de aminoácidos isoladamente (Cunliffe e colaboradores, 1997; Tirapegui, 2004). Assim,

frente à literatura é sugestivo o fato da suplementação com diferentes doses de leucina estar relacionada com significativas mudanças comportamentais que podem refletir em mudança na performance de atletas. Os modelos animais utilizados na experimentação científica são extremamente importantes para a pesquisa, pois mimetizam algumas características elementares de um estado patológico específico, favorecendo a sua compreensão e o desenvolvimento de terapias eficazes reduzindo o número de variáveis, oferecendo, assim, maior grau de controle e permitindo manipulações experimentais que poderiam ser impossíveis em outras circunstâncias.

Diversos fatores ambientais podem determinar adaptações, bem como, implementar comportamentos específicos, assim, embora haja uma pequena variação de uma espécie para outra, os comportamentos emocionais, como evitação e imobilismo, permanecem os mesmos e constituem a base para a classificação dos comportamentos ao longo da evolução biológica.

Com base nisso, as emoções tais como medo e expectativa, são representadas por redes neurais inatas que coordenam as estratégias comportamentais permitindo aos animais interagirem com mudanças contínuas no ambiente (Zangrossi e File, 1992).

Por muitos anos têm sido desenvolvidos diferentes métodos que permitem quantificar a atividade locomotora de ratos. Neste sentido, os parâmetros que quantificam o padrão de movimentação no campo aberto estão relacionados com a frequência de amostragem, a resolução espacial, a relação entre o tamanho do animal e a área do aparato experimental, a distância do deslocamento, o tempo de permanência em cada região do campo e a velocidade do movimento (Rousseau e colaboradores, 1998).

O labirinto em cruz elevado (LCE) faz parte do rol de testes indicados na avaliação do comportamento de ratos, sendo útil na pesquisa de comportamento animal (Schmitt e colaboradores, 1998). O LCE se baseia na medida de todas as categorias comportamentais que refletem o conflito resultante da tendência dos animais de explorar ambientes desconhecidos e evitar situações potencialmente perigosas, sendo um dos testes mais empregados no estudo da ansiedade (Pellow e colaboradores, 1985).

Neste sentido, a proposta deste trabalho foi avaliar através dos testes de campo aberto e labirinto em cruz elevado, o comportamento de ratos suplementados com três doses distintas de leucina.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados ratos Wistar com 3 meses de idade, adquiridos na empresa ANILAB®, alimentados com ração e água *ad libitum*, submetidos a ciclo fotoperiódico de 12h claro/escuro e distribuídos em grupos experimentais com $n=6$, denominados de controle (C), suplementados com leucina 0,30 mM/100g (L 0,30), suplementado com leucina 1,25mM/100g (L1,25) e suplementados com leucina 5 mM/100g (L5). O suplemento foi administrado nas doses supracitadas durante 7 dias através da via orogástrica (Figura 1), no horário das 13-14h, este período de tratamento foi escolhido tendo como referência o estudo de Coombes e McNaughton (2000) e os procedimentos experimentais seguiram as orientações de Andersen (2004).

Os protocolos de avaliação comportamental foram aplicados após o período de tratamento, momento em que os animais foram expostos, uma única vez, ao campo aberto no período noturno após as 19h30, devido a maior atividade da espécie, permanecendo no ambiente durante 3 minutos. No teste do labirinto em cruz elevado, o mesmo procedimento inicial foi aplicado, porém, o período experimental de observação foi de 5 minutos conforme o modelo descrito por Pellow, e colaboradores (1985). Comitê de Ética, protocolo 011/2006 da UFSCar.



Figura 1 - Suplementação via orogástrica pelo método da gavagem.

Campo Aberto

Os animais analisados foram do grupo controle e dos grupos controle suplementados nas doses de 5 mM, 1,25 mM e 0,30 mM, após o sétimo dia de suplementação foram colocados em uma caixa aberta dividida internamente em nove quadrados uniformes, onde os animais permaneciam durante 3 minutos sendo contado cada espaço percorrido pelo animal, através dos limites entre cada quadrado, foi considerado um campo explorado quando o mesmo ultrapassasse o quadrado com pelo menos 3 patas, o teste foi realizado no período noturno, após as 19:30 horas, devido a maior atividade da espécie, conforme protocolo descrito por Cruz e Graeff, (1994).

Labirinto em cruz elevada

Os animais analisados foram do grupo controle e dos grupos controle suplementados nas doses de 5 mM, 1,25 mM e 0,30 mM, no sétimo dia de suplementação, foram colocados numa plataforma elevada em formato de cruz, composta de um corredor fechado e outro aberto e seus limites de cruzamento, o período experimental de observação foram de 5 minutos, realizado no período noturno, após as 19:30 horas, devido a maior atividade da espécie, onde foram cronometrado o tempo de permanência do animal em cada estação, conforme o modelo descrito por Pellow e colaboradores, (1985).

Análise Estatística

A análise estatística foi realizada através do teste de normalidade de Shapiro-Wilk, seguido da aplicação da análise de variância ANOVA: one way e do pós-teste de Tukey, com relevância estatística de $p<0,05$.

RESULTADOS

Na avaliação do comportamento exploratório foi observado que os ratos suplementados com leucina 0,30mM não diferiram do grupo controle, por outro lado, o grupo suplementado com a dose de leucina 1,25mM (que corresponde a 4 vezes a menor concentração), foi observado redução de 34% no deslocamento exploratório. Na avaliação do grupo suplementado com leucina 5mM (correspondendo a 16 vezes a menor concentração) foi observado a maior redução

no comportamento, atingindo valores 70% menores (Figura 2).

A seguir, foi avaliado o comportamento dos ratos submetidos ao labirinto em cruz elevado sendo observado que o grupo controle permaneceu 88% do tempo no braço fechado (BF), 10 % no braço aberto (BA) e 2% na interface dos braços do aparelho que determina o índice de risco (IR). Ao avaliar os demais grupos experimentais foi observado que o grupo suplementado com leucina 0,30 mM permaneceu em 82% no BF e 15% no BA, o que representa valores 13% maiores em BF e 50% maiores no BA, não diferindo do

controle quanto ao índice de risco. O grupo suplementado com leucina 1,25 mM permaneceu 79% no BF e 19% no BA, ou seja permaneceu por um tempo 10% menor no braço fechado e 20% maior no braço aberto se comparado ao controle, também não diferiu quanto ao índice de risco.

Por fim, foi avaliado o grupo suplementado com leucina 5mM sendo observado que permaneceu 6% do tempo no BA e apesar de além de se submeter ao fator de risco por um tempo 400% maior que os demais grupos, permaneceu o maior tempo no BF atingindo 94% do tempo.

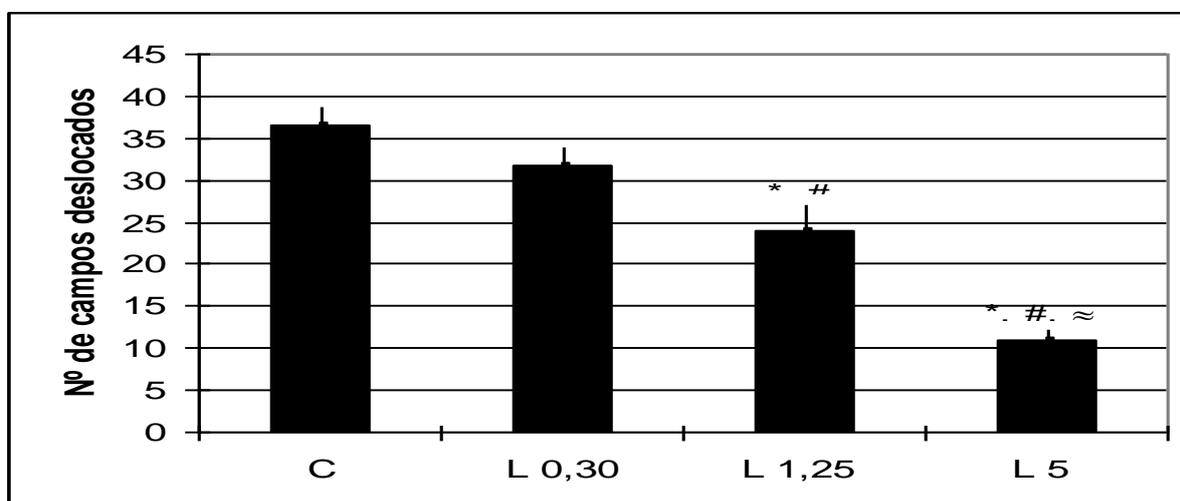


Figura 2 - Número de campos deslocados no teste de campo aberto obtidos nos grupos controle (C), suplementados com leucina 0,30 mM/100g (L0,30), suplementado com leucina 1,25mM/100g (L1,25) e suplementados com leucina 5 mM/100g (L5). *p<0,05 se comparado ao controle; #p<0,05 se comparado a L0,30mM, □p<0,05 se comparado a L1,25 mM.

DISCUSSÃO

O eixo norteador da proposta está embasado em estudos que apontam a existência de um sistema controlador do desenvolvimento de fadiga central representado pela competição do aminoácido com funções serotoninérgica cerebral propiciando a aquisição de fadiga (Gomes e Tirapegui, 2000; Jin e colaboradores, 2009).

Este tipo de fadiga seria causado por mudanças nas relações entre a disponibilidade de aminoácidos de cadeia ramificada e a captação do triptofano na barreira hematoencefálica, sendo descrito competição entre os aminoácidos, de forma que, aquele que estiver em maior concentração é transportado preferencialmente para o interior do líquido cefalorraquidiano e

consequentemente elevando a disponibilidade ao encéfalo (Kazapi e Tramonte, 2003; Newsholme e Blomstrand, 2006).

Neste sentido, existem modelos para avaliação comportamental do animal, utilizados neste estudo como: campo aberto (CA), relacionados com a frequência de amostragem, a resolução espacial, a relação entre o tamanho do animal e a área do aparato experimental, a distância do deslocamento, o tempo de permanência em cada região do campo e a velocidade do movimento (Rousseau e colaboradores, 1998); e o labirinto em cruz elevado (LCE) que se baseia na medida de todas as categorias comportamentais que refletem o conflito resultante da tendência dos animais de explorar ambientes desconhecidos e evitar situações potencialmente perigosas, sendo um

dos testes mais empregados no estudo da ansiedade (Pellow e colaboradores, 1985).

Têm sido construídas várias teorias acerca de índices comportamentais de animais, sendo considerada como comportamento exploratório a expressão comportamental da curiosidade espontânea nos animais (Rousseau e colaboradores, 1988; Martinez e Morato, 2004). Neste estudo, a análise do comportamento de ratos controle submetidos ao campo aberto mostrou uma grande atividade exploratória quando expostos ao meio e se refere à atividade de redes neurais inatas que coordenam as estratégias comportamentais permitindo aos animais interagirem com mudanças contínuas no ambiente e aprendizagem topográfica independente de recompensa (Zangrossi e File, 1992).

Muitas teorias foram propostas para explicar o comportamento exploratório dos ratos, dentre elas há referências que partem de conceitos simplistas ligados à existência de um impulso exploratório nato da espécie até teorias homeostáticas que se fundamentam no fato dos ratos explorarem em detrimento de necessidades de atingir níveis energéticos adequados a sobrevivência, para tal, diferentes sensações são desencadeadas no intuito de obter maiores informações acerca do ambiente (Renner e Seltzer, 1991).

No que tange ao perfil de suplementação clínica, sabe-se que a leucina é utilizada em grandes doses no tratamento de encefalopatias hepáticas, esta condição tem como finalidade gerar competição no processo de captação de aminoácidos promovendo melhora no estado mental (Fischer e colaboradores, 1976; Deshpande e colaboradores, 2007; Koivusalo e colaboradores, 2008; Pardridge e Choi, 1986; Maio e colaboradores, 2000).

Diversos cientistas avaliaram a atividade de áreas do sistema nervoso central frente à variação na disponibilidade plasmática de aminoácidos e observaram redução no padrão de ingestão em animais alimentados com altas doses de leucina (Beretich, 2005; Davis e colaboradores, 2000; Cota e colaboradores., 2006). Cabe considerar que, existe uma grande competição entre os sistemas de captação de aminoácidos na barreira hematoencefálica, devido ao baixo Km dos transportadores sendo observado que o excesso na disponibilidade plasmática de

leucina resulta na redução no conteúdo de serotonina e dopamina (Ramanamurthy e Srikantia, 1970; Peng e colaboradores, 1973; Harper e colaboradores, 1984; Choi e colaboradores, 2009). Neste sentido, ressaltamos que já foi descrito que estes eventos não foram observados na presença de isoleucina ou valina (Wu, 2009).

Os resultados do comportamento do grupo tratado com leucina 5mM quando submetido ao campo aberto mostraram redução significativa no comportamento exploratório nato da espécie e pode ter relações com o sistema de inibição comportamental constituído pela formação septo-hipocampal, junto com outras estruturas cerebrais como, por exemplo, os córtices pré-frontal e cingulado, tálamo antero ventral e corpos mamilares.

Este sistema responde a estímulos novos através da supressão do comportamento.

A ativação destes sistemas resultam na inibição de qualquer atividade que o animal esteja exercendo, levando, no extremo, à imobilidade tensa ou congelamento (Papez, 1937).

Assim, nossos resultados sugerem que a inibição comportamental é acompanhada de aumento de vigilância e da atenção, para perigos potenciais e pode refletir nas alterações da neurotransmissão dopaminérgica ou serotoninérgica em detrimento da redução na disponibilidade do triptofano.

No grupo tratado com leucina nas doses de 1,25mM também houve redução no índice exploratório, porém, em menor intensidade se comparado a dose 5 mM indicando um efeito intermediário, sem descartar sua potencialidade em promover redução no âmbito comportamental. Eventos estes que não foram observados na dose de 0,30mM.

Assim, este estudo de forma pioneira sugere que a suplementação com leucina na dose de 0,30mM possa propiciar resultados significativos quanto se pretende melhorar o perfil energético ou realizar ação anti-catabólica sem interferência na homeostasia do sistema nervoso central.

O LCE é um método considerado como um instrumento útil e válido para medir ansiedade, investigações de aspectos comportamentais, fisiológicos e

farmacológicos (Anseloni e colaboradores, 1997; Graeff e colaboradores, 1994).

No que tange ao LCE, foi observado que o grupo tratado com leucina 5mM permaneceu o maior tempo no braço fechado. É sabido que a tendência em permanecer nos braços fechados do labirinto é aumentada por estímulos e substâncias ansiogênicas, que aumentam a aversão aos braços abertos, possivelmente este comportamento possa indicar um evento que acompanha as altas doses de leucina (Harper e colaboradores., 1984; Pellow e colaboradores, 1985; Rohlfs e colaboradores, 2006).

Cabe ressaltar que a redução na porcentagem de tempo nos braços abertos indica ansiedade e reflete dois sistemas neurais que medeiam à reação dos animais: o sistema cerebral de defesa, acionado em situações de conflito ou de perigo iminente e o sistema de inibição comportamental, sistemas ligados a neurotransmissão serotoninérgica e dopaminérgica.

Outra possibilidade que possa explicar a mudança no comportamento pode estar fundamentado na proposta de Rohlfs e colaboradores (2005) onde sugere que mudanças na neurotransmissão pode ser o elemento responsável pelo componente cognitivo das emoções e diretamente modificar a expressão de ação dos núcleos da base e suas relações com componentes motor ou comportamental elaborando as manifestações neurovegetativas e endócrinas das emoções.

Nas doses menores 1,25 mM e 0,30mM, os componentes comportamentais também se manifestaram, porém, houve maior exploração do campo aberto e de acordo com a proposta de Cruz e colaboradores (1994) o tempo que o animal fica no braço fechado e o número de vezes em que o animal chega ao final do braço aberto é inversamente proporcional ao seu nível de ansiedade, indicando nesta condição, menor ansiedade, e conseqüentemente pode refletir em menores comprometimentos na neurotransmissão serotoninérgica. Por outro lado, a avaliação de risco que é um comportamento de conflito do animal medido pelo número de vezes que o animal se dirige ao centro do labirinto, mas não entra em outro braço, está diretamente relacionada com o nível de ansiedade. Com base nestes parâmetros foi observado que os grupos tratados com leucina na concentração de 1,25 e 0,30mM não diferiram entre si e se

comparado ao controle, e nos leva a considerar que dentro de uma vertente da análise neurofisiológica, as doses não geraram mudanças comportamentais significativas com visibilidade no teste do labirinto em cruz elevado.

CONCLUSÃO

Os resultados sugerem à existência de alterações fisiológicas e comportamentais ligadas a suplementação com altas doses de leucina. Estas alterações são caracterizadas pela redução na atividade exploratória e desenvolvimento de ansiedade, fatos que certamente alteram o comportamento e a performance de indivíduos que utilizem tal suplemento. Sugere-se ainda que a suplementação com leucina 0,30mM/100g pode ser uma dose efetivamente aplicada sem interferir no aspecto comportamental/emocional.

REFERÊNCIAS

- 1- Andersen, M.L.; D'Almeida, V.; Ko, G.M.; Kawakami, R.; Martins, P.J.F.; Magalhães, L.E.; Tufik, S. Princípios Éticos e Práticos do uso de Animais de Experimentação. UNIFESP. 1ª edição. 2004.
- 2- Anseloni, V.Z.; Brandão, M.L. Ethopharmacological analysis of behavior of rats using variations of the elevated plus-maze. Behavioural Pharmacology. Vol. 8. 1997. p. 533-540.
- 3- Beretich, G.R. Do high leucine/low tryptophan dieting foods (yogurt, gelatin) with niacin supplementation cause neuropsychiatric symptoms (depression) but not dermatological symptoms of pellagra? Med Hypotheses. Vol. 65. Num. 3. 2005. p. 628-629.
- 4- Coombes, J.S.; McNaughton, L.R. Effects of branched-chain amino acid supplementation on serum creatine kinase and lactate dehydrogenase after prolonged exercise. J Sport Med Phys Fitness. Vol. 40. 2000. p. 240-246.

Revista Brasileira de Nutrição Esportiva

ISSN 1981-9927 *versão eletrônica*

Periódico do Instituto Brasileiro de Pesquisa e Ensino em Fisiologia do Exercício

www.ibpex.com.br / www.rbne.com.br

- 5- Choi, S.; Disilvio, B.; Fernstrom, M.H.; Fernstrom, J.D. Meal ingestion, amino acids and brain neurotransmitters: effects of dietary protein source on serotonin and catecholamine synthesis rates. *Physiol Behav.* Vol. 4. Num. 98. 2009. p. 156-162.
- 6- Cota, D.; Proulx, K.; Smith, K.A.; Kozma, S.C.; Thomas, G.; Woods, S.C.; Seeley, R.J. Hypothalamic mTOR signaling regulates food intake. *Science.* Vol. 12. Num. 312. 2006. p. 927-930.
- 7- Cruz, A.P.M.; Graeff, F.G. Ethopharmacological analysis of rat behavior on the elevated plus-maze. *Pharmacol Biochem Behav.* Vol. 49. 1994. p. 171-176.
- 8- Cunliffe, A.; Obeid, O.A.; Powell-Tuck, J. Post-prandial changes in measures of fatigue: effect of a mixed or a pure carbohydrate or pure fat meal. *Eur J Clin Nutr.* Vol. 51. 1997. p. 831-838.
- 9- Davis, J.M. Carbohydrates, branched-chain amino acids, and endurance: the central fatigue hypothesis. *Int J Sports Nutr.* Vol. 5. 1995. p. 29-38.
- 10- Davis, J.M.; Alderson, N.L.; Welsh, R.S. Serotonin and central nervous system fatigue: nutritional considerations. *Am J Clin Nutr.* Vol. 72. Num. 2. 2000. p. 573S-578S.
- 11- Deshpande, G.; Adachi, N.; Liu, K.; Motoki, A.; Mitsuyo, T.; Nagaro, T.; Arai, T. Recovery of brain dopamine metabolism by branched-chain amino acids in rats with acute hepatic failure. *J Neurosurg Anesthesiol.* Vol. 19. Num. 4. 2007. p. 243-248.
- 12- Fischer, J.E.; Rosen, H.M.; Ebeid, A.; James, J.H.; Kenane, J.M.; Soeters, P.B. The effect of normalization of plasma aminoacids on hepatic encephalopathy in man. *Surgery.* Vol. 80. 1976. p. 77-97.
- 13- Graeff, F.G. Neuroanatomy and neurotransmitter regulation of defensive behaviors and related emotions in mammals. *Braz J. Med. Biol. Res.* Vol. 27. Num. 4. 1994. p. 811-829.
- 14- Gomes, M.R.; Tirapegui J. Relação de alguns suplementos nutricionais e o desempenho físico. *Arch. Latinoam Nutr.* Vol. 50. 2000. p. 317-329.
- 15- Harper, A.E.; Miller, R.H.; Block, K.P. Branched-chain amino acid metabolism. *Ann. Rev Nutr.* Vol. 4. 1984. p. 409-454.
- 16- Hood D.A.; Terjung R.I. Amino acid metabolism during exercise and following endurance training. *Sport Med.* Vol. 9 Num. 1. 1990. p. 23-35.
- 17- Jin, G.; Kataoka, Y.; Tanaka, M.; Mizuma, H.; Nozaki, S.; Tahara, T.; Mizuno, K.; Yamato, M.; Watanabe, Y. Changes in plasma and tissue amino acid levels in an animal model of complex fatigue. *Nutrition.* Vol. 25. Num. 5. 2009. p. 597-607.
- 18- Kazapi, I.A.M.; Tramonte, V.L.C.G. *Nutrição do atleta.* Florianópolis: Editora da UFSC 2003.
- 19- Koivusalo, A.M.; Teikari, T.; Höckerstedt, K.; Isoniemi, H. Albumin dialysis has a favorable effect on amino acid profile in hepatic encephalopathy. *Metab Brain Dis.* Vol. 23. Num. 4. 2008. p. 387-398.
- 20- Maio, R.; Dichi, J.B.; Burini, R.C. Conseqüências nutricionais das alterações metabólicas dos macronutrientes na doença hepática crônica. *Arq. Gastroenterol.* Vol. 37. 2000. p. 52- 57.
- 21- Martinez, R.T.; Morato, S. Tigmotatismo e exploração em ratos adultos e filhotes. *Rev. Etol.* Vol. 6. Num. 1. 2004. p. 1-6.
- 22- Newsolme, E.A.; Blomstrand, E. Branched-Chain Amino Acid and central fatigue. *J. Nutr.* Vol. 136. 2006. p. 274-276.
- 23- Papez, J.W. A proposed mechanism of emotion. *Arch Neurol of Psychiatry.* Vol. 38. 1937. p. 725-743.
- 24- Othani, M.; Sugita, M.; Maruyama, K. Amino acid mixture improves training efficiency in athletes. *J. Nutr.* Vol. 136. 2006. p. 538-543.

Revista Brasileira de Nutrição Esportiva

ISSN 1981-9927 *versão eletrônica*

Periódico do Instituto Brasileiro de Pesquisa e Ensino em Fisiologia do Exercício

www.ibpex.com.br / www.rbne.com.br

25- Pardridge, W.M.; Choi, T.B. Neutral amino acid transport at the human blood-brain barrier. *Fed. Proc.* Vol. 45. 1986. p. 2073-2078.

26- Peng, Y.; Gubin, J.; Harper, A.E.; Vavich, M.G.; Kemmerer, A.R. Food intake regulation: Amino acid toxicity and changes in rat brain and plasma amino acid. *J. Nutr.* Vol. 103. 1973. p. 608-617.

27- Pellow, S.; Chopin, P.; File, S.; Briley, M. Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rats. *J. Neurosci. Meth.* Vol. 14. 1985. p. 149-167.

28- Ramanamurthy, O.S.; Srikantia, S.G. Effects of leucine on brain serotonin. *J. Neurochem.* Vol. 17. 1970. p.27-32.

29- Renner, M.J.; Seltzer, C.P. Characteristics of exploratory and investigatory behavior in the rat (*Rattus norvegicus*). *J. Comparative Physicol.* Vol. 1051. 1991. p. 326-339.

30- Rohlfs, I.C.P.M.; Mara, L.S.; Lima W.C.; Carvalho T. Relação da síndrome do excesso de treinamento com estresse, fadiga e serotonina. *Rev. Bras. Med. Esporte.* Vol. 11. Num. 6. 2005. p. 367-372.

31- Rousseau, J.B.I.; Gispen, W.H.; Spruijt, B.M. A comparison of various analysis parameters of locomotion patterns of rats in an open field. 2nd International Conference on Methods and Techniques in Behavioral Research. Gainingen, Netherlands, 1998. p1-2.

32- Schmitt, U.; Hiemke, C. Strain differences in open-field and elevated plus-maze behavior of rats without and with pretest handling. *Pharmacol Biochem Behav*; vol. 59. Num. 4. 1998. p. 807-811.

33- Tirapegui, L.R.J. Implicações do Sistema Serotoninérgico no Exercício Físico. *Arq Bras Endocrinol Metab.* Vol. 48. Num. 2. 2004. p. 227-233.

34- Zangrossi, H.J.R.; File, S.E. Behavioral consequences in animal tests of anxiety and exploration of exposure to cat odor. *Brain Res Bull.* Vol. 29. Num. 3-4. 1992. p. 381-388.

35- Wu, G. Amino acids: metabolism, functions, and nutrition. *Amino Acids.* Vol. 37. Num. 1. 2009. p. 1-17.

Recebido para publicação em 03/03/2011
Aceito em 23/04/2011