



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA –UFSC  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS

NAIARA DE SOUZA SANTOS

**O exercício físico atenua o desenvolvimento de fadiga em camundongos tratados sistemicamente com LPS *E. Coli***

Araranguá,

2024

NAIARA DE SOUZA SANTOS

**O exercício físico atenua o desenvolvimento de fadiga em camundongos tratados sistemicamente com LPS *E. Coli***

Dissertação de mestrado apresentado ao Programa de Pós-graduação em Neurociências do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Santa Catarina em cumprimento ao requisito para obtenção do título de Mestre em Neurociências.

Orientador: Prof. Dr. Aderbal Silva Aguiar Junior.

Araranguá,

2024

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC

Santos, Naiara de Souza

O exercício físico atenua o desenvolvimento de fadiga em camundongos tratados sistemicamente com LPS E. Coli / Naiara de Souza Santos ; orientador, Aderbal Silva Aguiar Júnior, 2024.

65 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Campus Araranguá, Programa de Pós-Graduação em Neurociências, Araranguá, 2024.

Inclui referências.

1. Neurociências. 2. fadiga. 3. aeróbico. 4. anaeróbico. 5. lipopolissacarídeo. I. Júnior, Aderbal Silva Aguiar. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Neurociências. III. Título.

Naiara de Souza Santos

**O exercício físico atenua o desenvolvimento de fadiga em camundongos tratados sistemicamente com LPS *E. Coli***

O presente trabalho em nível de mestrado foi apresentado no dia 26 de março de 2024, avaliado e aprovado por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Dr. Guilherme Fleury Fina Speretta  
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Dr. Alexandre Pastoris Muller  
Universidade Federal de Santa Catarina

Certificamos que esta é a versão original e final do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de mestre em Neurociências.

---

Prof. Aderbal Silva Aguiar Jr, Dr.  
*Orientador*

---

Profa. Eloise Pavessi, Dra.  
Subcoordenadora

*Dedico este trabalho a todos que incentivaram e incentivam a minha trajetória na ciência.*

*Em memória de Maria de Almeida Santos.*

## AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a Deus, por sempre ser o meu braço direito em tudo que faço em minha vida. Por não ter deixado o medo de me aventurar fora de casa durante estes 7 anos de UFSC, ser maior do que a minha vontade de estudar e mudar a minha realidade.

Agradeço aos meus familiares que sempre me incentivaram, seja com uma palavra de motivação com uma “ajudinha” principalmente minha tia Cláudia, tio Amauri e minha prima Yasmin.

Agradeço ao meu pai por ter me ajudado ao custear meus dois primeiros meses em Araranguá, que foi fundamental para conseguir uma bolsa permanência e continuar estudando!

Em especial, gostaria de deixar registrado a minha gratidão a minha amiga Thainá Bufon, que me ajudou muito, principalmente quando passei pela troca de bolsas.

As minhas amigas, Ana Cristina, Ana Paula Tavares e Fernanda Schineider, pelo suporte psicológico e motivação durante esta trajetória.

Ao casal de amigos, Kida e Evaldo, por acreditarem no meu trabalho e serem meus primeiros clientes após formada, permanecendo comigo durante estes 2 anos.

Ao meu namorado Douglas Oliveira, que veio para somar durante estes dois anos, sendo minha base de apoio, assim como o restante da família, principalmente Rosa e Álvaro, que me acolheram e me ajudaram muito durante as fases difíceis destes dois anos de pós-graduação.

Agradeço aos meus amigos do LABIOEX, em especial a nossa médica veterinária Amanda L. Bastos, a doutoranda Tatyana Nery e os alunos de iniciação científica, Ana Paula e Larissa Oliveira e Thiago Aguiar, que contribuíram de alguma forma neste trabalho.

Ao CNPq, CAPES e FAPESC pelo apoio financeiro.

E por fim, mas não menos importante, agradeço ao meu orientador Aderbal Silva Aguiar Júnior, por me incentivar e acreditar na minha competência durante os meus 5 anos no LABIOEX. Além disso, agradeço pela compreensão nas fases difíceis e pela motivação quando o projeto parecia ter ido por “água abaixo”.

Deixo minha gratidão a tantos outros que de alguma forma foram importantes durante este período.

“Quando acordei hoje de manhã, eu sabia quem eu era,  
mas acho que já mudei muitas vezes desde então.”

*(Alice no País das maravilhas, Lewis Carroll)*

## RESUMO

A fadiga é uma sensação experimentada por alguma alteração fisiológica e/ou patológica, podendo ser aguda ou crônica, que é influenciada por alterações tanto a nível de sistema nervoso central (SNC), quanto a nível de sistema nervoso periférico (SNP). A fadiga, muitas vezes, está associada à encefalomielite autoimune, doença de Parkinson, Alzheimer, depressão e fibromialgia. O Lipopolissacarídeo, pode reproduzir um modelo de inflamação e auxiliar na investigação da fadiga decorrente destas patologias. O exercício, praticado de forma regular, leva a melhoras físicas e mentais, melhorando a disposição, qualidade de vida e mostra ser um importante agente protetor no desenvolvimento de diferentes doenças inflamatórias. **Objetivo:** Avaliar o potencial protetor do exercício na fadiga aeróbica e anaeróbica em camundongos tratados sistematicamente com lipopolissacarídeo (LPS) de *Escherichia Coli*. **Métodos:** Definimos 56 camundongos suíços, machos, adultos (8-10 semanas de idade) divididos em quatro grupos, sendo sedentários (SED) ou exercício (EXE), solução salina (SAL) ou solução lipopolissacarídeo (LPS) (*E. Coli*, 0.33mg/kg i.p) sistemicamente. Os animais correram em roda de corrida voluntária disponível durante 6 semanas. Após este período, realizaram teste incremental máximo em esteira metabólica para análise da potência de corrida, consumo de oxigênio ( $\dot{V}O_2$ ) e taxa de troca respiratória (RER), ou teste de força máximo (análise de pico de força e tempo de preensão), depois de 4 horas da administração de LPS. **Resultados:** Os resultados mostram que a cinética de oxigênio foi prejudicada pelo tratamento com LPS. No entanto, animais treinados obtiveram um  $\dot{V}O_{2max}$  superior, assim como o aumento significativo da potência. O exercício aumentou a força máxima dos animais treinados e o tempo de preensão. **Conclusão:** O exercício aeróbico de 6 semanas, mostrou potencial protetor na fadiga aeróbica e anaeróbica em animais tratados com LPS através do aumento do consumo de  $\dot{V}O_{2max}$ , potência e força muscular.

**Palavras-chaves:** fadiga; lipopolissacarídeo; exercício; aeróbico; anaeróbico.

## ABSTRACT

Fatigue is a sensation experienced by some physiological and/or pathological change, which can be acute or chronic, which is influenced by changes in both the central nervous system (CNS) and the peripheral nervous system (NPS). Exercise, practiced regularly, leads to physical and mental improvements, improving disposition, quality of life and shows to be an important protective agent in the development of different diseases. **Objective:** To evaluate the protective potential of exercise in aerobic and anaerobic fatigue in mice treated systematically with LPS *E. coli*. **Methods:** We defined 56 Swiss mice, males, adults (8-10 weeks of age) were divided into sedentary (SED) and exercise (EXE), saline solution (SAL) and lipopolysaccharide solution (*E. coli*, 0.33mg/kg i.p). The animals ran on a voluntary running wheel for 6 weeks. After this period, they performed maximum incremental test on metabolic treadmill for analysis of running power, oxygen consumption (O<sub>2</sub>) and respiratory exchange rate (RER), or maximum strength test (peak strength analysis and hold time) after 4 hours of LPS administration. **Results:** The results show that oxygen kinetics was impaired by treatment with LPS. However, trained animals obtained a higher O<sub>2</sub>max, as well as a significant increase in potency. The exercise increased the maximum strength of the trained animals and the hold time. **Conclusion:** The aerobic exercise of 6 weeks, showed protective potential in aerobic and anaerobic fatigue in animals treated with LPS through increased consumption of O<sub>2</sub>max, power and muscle strength.

**Keywords:** fatigue; lipopolysaccharide; exercise; aerobic; anaerobic.

## LISTA DE FIGURAS

<b>FIGURA 1.</b> LOCALIZAÇÃO DO LPS NA BACTÉRIA GRAM NEGATIVA.....	2
<b>FIGURA 2.</b> O LIPOPOLISSACARÍDEO E A SUA ESTRUTURA.....	3
<b>FIGURA 3.</b> MUDANÇA DE ESTADO DE ATIVIDADE DA MIGROGLIA.....	4
<b>FIGURA 4.</b> MECANISMO DE AÇÃO DO LPS E O PAPEL DO LPS NA INFLAMAÇÃO.....	5
<b>FIGURA 5.</b> FASE DE AQUISIÇÃO E FASE DE MANUTENÇÃO.....	10
<b>FIGURA 6.</b> RODA DE CORRIDA VOLUNTÁRIA E POSIÇÃO NA CAIXA.....	14
<b>FIGURA 7.</b> ESTEIRA METABÓLICA ANALISADOR GASES E CILINDRO DE CALIBRAÇÃO.....	17
<b>FIGURA 8.</b> SOFTWARE AQCAD.....	18
<b>FIGURA 9.</b> SOFTWARE ESTEIRA.....	18
<b>FIGURA 10.</b> GRIP STRENGT TEST.....	19
<b>FIGURA 11.</b> DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	20
<b>FIGURA 12.</b> O EXERCÍCIO FÍSICO ATENUA O DECLÍNIO DO $\dot{V}O_2$ E DA POTÊNCIA AERÓBICA DE CAMUNDONGOS TRATADOS COM LPS.....	22
<b>FIGURA 13.</b> O EXERCÍCIO FÍSICO ATENUA O DECLÍNIO DO $\dot{V}O_2$ E DA POTÊNCIA AERÓBICA DE CAMUNDONGOS TRATADOS COM LPS.....	24
<b>FIGURA 14.</b> EXERCÍCIO ATENUA PERDA DE FORÇA DE PREENSÃO CAUSADA PELO TRATAMENTO LPS.....	25

## LISTA DE TABELA

<b>TABELA 1. TESTE INCREMENTAL MÁXIMO EM ESTEIRA.....</b>	<b>16</b>
---	-----------

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

**E.Coli** - Escherichia Coli  
**LPS** - lipopolissacarídeo  
**PAMP** - Padrão molecular associado a patógeno  
**TLR4** - receptor toll like-4  
**IRF3**- fator regulador de interferon  
**MAPK** - proteína quinase ativada por mitógeno  
**MY88** - Adaptador de transdução de sinal imunológico inato  
**TNF**- fator de necrose tumoral  
**NF- $\kappa$ B**- fator de transcrição fator nuclear kappa B  
**NO**- óxido nítrico  
**PGE** - prostaglandina E  
**TRPV**- potencial receptor transitório  
**GSH-t** - glutationa  
**Nrf2** - fator nuclear eritróide-2  
**HO-1**- enzima hemeoxigenase 1  
**Bax** - regulador de apoptose  
**IL**- interleucina  
**SNC**- sistema nervoso central  
**SNP**- sistema nervoso periférico  
**EVA** - escala visual analógica  
**MoCA** - avaliação cognitiva de Montreal  
**ATP**- adenosina trifosfato  
**PCr**- fosfocreatina  
**ADP** - adenosina difosfato  
**GLUT-4**- transportador de glicose 4  
**PFK**- fosfofrutoquinase  
**ROS**- espécies reativas de oxigênio  
 **$\dot{V}O_2$**  - volume de oxigênio  
 **$\dot{V}O_2$  max**- volume máximo de oxigênio  
**RER**- índice de troca respiratória  
**NAD**- dinucleótido de nicotinamida e adenina

**OMS**- organização mundial de saúde  
**LDL**- lipoproteína de baixa densidade  
**TG**- triglicerídeos  
**IFN** - interferon  
**BDNF** - fator neurotrófico derivado do cérebro  
**A $\beta$**  - proteína  $\beta$ -amilóide  
**Ca<sup>+</sup>**- cálcio  
**AEA**- encefalomielite autoimune  
**UFSC**- Universidade Federal de Santa Catarina  
**LABIOEX**- laboratório de biologia do exercício físico  
**CTS**- Centro de Ciências Tecnologia e Saúde  
**ARA**- Araranguá  
**CEUA** - Comissão de Ética no Uso de Animais  
**GRIP**- Grip strenght test  
**i.p**- intraperitoneal  
**VCO<sub>2</sub>** - volume de gás carbônico  
**m.A**- miliampere  
**m.s** - metros por segundo  
**min**- minutos  
**mg/kg** - miligrama/quilograma  
**kgf** - quilograma força  
**TR**- temperatura retal  
**EXE**- exercício  
**SED**- sedentário  
**SEM**- erro padrão da média  
**N**- número da amostra  
**PGC** - prostaglandina  
**TFAM**- fator de transcrição mitocondrial A  
**NRF-1**-fator respiratório nuclear 1  
**mmol/L** - milimol por litro

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	1
1.1 O EXERCÍCIO FÍSICO E OS SEUS BENEFÍCIOS .....	1
1.2 FADIGA .....	2
1.2.1 Fadiga mental .....	3
1.2.2 Fadiga física .....	4
1.2.2.1 Fadiga ao exercício anaeróbico .....	5
1.2.2.2 Fadiga ao exercício aeróbico .....	7
1.3 ORIGEM DO LIPOPOLISSACARÍDEO .....	8
1.3.1 O Lipopolissacarídeo e o seu mecanismo de ação .....	9
1.3.2 Modelos de inflamação por LPS .....	13
2. JUSTIFICATIVA .....	15
3. OBJETIVOS .....	16
3.1 Objetivo Geral .....	16
3.2 Objetivo específico .....	16
4. METODOLOGIA .....	17
4.1 ANIMAIS .....	17
4.1.2 Distribuição e roda de corrida voluntária .....	17
4.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL .....	18
4.2 HANDLING .....	19
4.3 MODELO DE INFLAMAÇÃO .....	19
4.4 TESTES ERGOESPIROMÉTRICO EM ESTEIRA .....	20
4.4.1 Descrição da habituação e teste máximo em esteira: .....	20
4.4.2 Esteira metabólica: análise de gases .....	21
4.6 TEMPERATURA RETAL .....	23
4.7 COLETA DE SANGUE: LACTATO .....	23
4.8 FORÇA DE PREENSÃO .....	24
4.9 ANÁLISE DE DADOS .....	25
5. RESULTADOS .....	25
5.1 O exercício físico atenua o declínio do $\dot{V} O_2$ e da potência aeróbica de camundongos tratados com LPS. ....	25
5.2 Exercício atenua perda de força de preensão causada pelo tratamento LPS em camundongos .....	28
6. DISCUSSÃO .....	30

6.1 O exercício físico atenua o declínio do $\dot{V} O_2$ e da potência aeróbica de camundongos tratados com LPS.....	30
6.2 Exercício atenua perda de força de preensão causada pelo tratamento LPS em camundongos .....	33
7. CONCLUSÕES, LIMITAÇÕES E PERSPECTIVAS .....	35
REFERÊNCIAS .....	1

## 1. INTRODUÇÃO

Vamos entender a fadiga e suas diferenças, definindo os tipos de fadiga e as alterações fisiológicas e/ou patológicas envolvidas nesses processos. Além disso, vamos abordar uma breve introdução sobre o exercício físico e seus benefícios, pontos importantes sobre o papel do exercício físico prévio na inflamação sistêmica e como isso afeta a fadiga aeróbica e anaeróbica. Neste caso, também vamos discutir e entender o que é o lipopolissacarídeo (LPS) e revisar seu mecanismo inflamatório.

### 1.1 O EXERCÍCIO FÍSICO E OS SEUS BENEFÍCIOS

O exercício físico é amplamente realizado por todo o mundo. A prática de forma constante, leva a melhoras físicas e mentais, melhorando a disposição e a qualidade de vida (BERGER & MCINMAN, 1993). É relatado como um agente protetor no desenvolvimento de diferentes doenças (LUAN et al., 2019; LIU, 2020; ZHENG; ZHAO; LIU, 2020). A “dose” ideal é relativa de acordo com a condição de cada indivíduo. A OMS, durante a pandemia do COVID-19, definiu novas recomendações sobre a prática de exercício físico, que é definido como a prática de um exercício com duração, intensidade e frequência determinados, sendo recomendada atividade aeróbica de moderada a intensa durante 150-300 minutos por semana para adultos, e entre 60 minutos para crianças e adolescentes. Além disso, o exercício físico deve ser complementado com as tarefas rotineiras, que são as atividades físicas, mantendo a jardinagem, lazer, atividades de limpeza da casa, caminhadas até um estabelecimento, jogos e esportes, não possui frequência, duração ou intensidade estabelecidas (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2020; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2021).

O exercício aeróbico apresenta diferentes benefícios, como melhora o consumo de oxigênio, diminui as espécies reativas de oxigênio, melhora a fração de ejeção e possui efeito antiinflamatório (reduzindo citocinas). Além disso, o exercício ajuda na captação de glicose pelo aumento da sensibilidade à insulina, efeitos positivos no controle da pressão arterial, redução nas concentrações plasmáticas de LDL-C e triglicérides (TG) (GREEN et al., 2020; ABDELBASSET et al., 2020; MUSCELLA; STEFANO; MARSIGLIANTE, 2020). Sua prática regular, mostra diminuição da dispneia, fadiga, dor, melhora disposição para as atividades físicas, melhora da qualidade de vida, ajuda na socialização, aumento da disposição para o trabalho, melhora da qualidade do sono, redução da ansiedade e benefícios

antidepressivos (MARTINSEN et al., 1990; DRIVER & TAYLOR, 2000; BINDER et al., 2004; MACHADO; CORRÊA; RABAHI, 2019).

O exercício físico mostra efeitos protetores no SNC. A prática regular de atividade física mostra ser benéfica na prevenção de diferentes doenças, como Encefalomielite Autoimune, Alzheimer, Parkinson, Depressão e Ansiedade (KIM & SUNG, 2017; RIZZO et al. 2021; ZHENG; ZHAO; LIU, 2020; AGUIAR et al. 2014). Em modelo animal de encefalomielite autoimune, com treinamento de força por 4 semanas, durante 5 dias na semana, mostrou uma redução de sinais clínicos da encefalomielite, redução de citocinas pró-inflamatórias, como interferon (IFN)- $\gamma$ , interleucina (IL)-17 e IL-1 $\beta$ , além da redução do estresse oxidativo (SOUZA et al., 2017). De forma prévia e regular, o exercício físico mostra ainda aumentar BDNF no cérebro e na medula espinhal em camundongos com AEA, levando como consequência uma menor desmielinização de neurônios (BERNARDES et al., 2013). O exercício regular em esteira e natação, acarreta como resultado, uma maior biodiversidade da microbiota intestinal, levando a um aumento protetor da barreira intestino-cérebro pelo reequilíbrio de lactobacilos, que dificulta a inflamação induzida por LPS ao comprometer seu deslocamento (DING & DU et al., 2022; YUAN et al., 2022).

Na doença alzheimer o exercício em esteira durante 5 semanas, 30 minutos por dia, com 60% a 70% do  $\dot{V}O_2$  max, mostrou melhora em animais inflamados através da redução dos níveis da proteína  $\beta$ -amilóide (A $\beta$ 1-40 e A $\beta$ 1-42) solúvel e aumento do metabolismo lipídico, após 24 horas da administração de LPS, sugerindo um efeito neuroprotetor no desenvolvimento da doença de alzheimer (ZHENG; ZHAO; LIU, 2020). Na doença de parkinson, 10 semanas de exercício físico, mostram melhora dos déficits motores induzidos pela levodopa e preservação de neurônios na substância nigra (TSAI et al., 2019). Aguiar e colaboradores, evidenciaram que o exercício voluntário de 6 semanas, proporciona melhora na atividade mitocondrial e na neuroplasticidade, mostrando ser um potente ansiolítico e interferindo de forma positiva na neurotransmissão de monoaminas (AGUIAR et al. 2014). Além disso, o exercício de corrida durante 6 semanas, 20 minutos por dia, em modelo de depressão, mostra redução de fatores inflamatórios no hipocampo e inibição da ativação microglial (XIAO et al., 2014).

## 1.2 FADIGA

A fadiga é uma sensação experimentada por alguma alteração fisiológica e/ou patológica, podendo ser aguda ou crônica, que é influenciada por alterações tanto a nível de

sistema nervoso central (SNC), quanto a nível de sistema nervoso periférico (SNP). A fadiga é acompanhada por uma sensação de cansaço, que leva a uma redução de desempenho da atividade realizada e declínio da motivação, e pode ser classificada ainda, como fadiga física e/ou mental (CHAUDHURI; BEHAN et al., 2004). A fadiga pode ser medida através da fatigabilidade, que é descrita como mudanças objetivas no desempenho (CHAUDHURI; BEHAN et al., 2000; STRAWBRIDGE et al., 2019).

Quando a fadiga física e/ ou mental, perdura por 6 meses ou mais, atinge um comprometimento crônico e de difícil tratamento, a síndrome da fadiga crônica (FUKUDA et al., 1994). A fadiga crônica, é definida como uma fadiga que não melhora com repouso, agravada por atividade física ou cognitiva, possui causa multifatorial, sendo que a infecção viral e doenças neurológicas, são as causas mais comuns, levando a consequências que podem perdurar por meses e até anos (HUANG et al., 2020; LAM et al., 2009; CAMPOS et al., 2022).

Com intuito de compreender melhor a fadiga, vamos aprofundar nosso conhecimento nos tipos de fadiga e discutir, principalmente, sobre a fadiga física aeróbica e anaeróbica.

### **1.2.1 Fadiga mental**

A fadiga mental ocorre após uma única tarefa cognitiva prolongada ou um conjunto de tarefas, que leva a uma sensação de cansaço, exaustão e diminuição da motivação, ou seja, aumenta a nossa percepção de esforço. A fadiga mental, é referida como “cansaço” e influencia diretamente na atenção e planejamento, alterando a concentração, memória e a atenção, que leva a um comprometimento de tarefa cognitiva, comportamental e física (CHAUDHURI; BEHAN et al., 2004). Muitas vezes, a fadiga está associada à doenças neurológicas, distúrbios psiquiátricos, doenças reumáticas e infecciosas (AGUIAR et al., 2009; CHAUDHURI; BEHAN et al., 2000; DELUCA et al., 2008; CAMPOS et al., 2022). Atualmente, a fadiga mental mostra ser um importante problema epidemiológico, devido a cargas de trabalho e estudos extenuantes, gerando uma menor produtividade dos trabalhadores e também de estudantes (ÅKERSTEDT et al., 2004; QI et al., 2019). A fadiga mental é um estado psicobiológico, mas pouco se sabe sobre os seus mecanismos. Alguns possíveis mecanismos da fadiga mental em doenças neurológicas e psíquicas vem sendo estudados. Evidências mostram níveis elevados de citocinas pró-inflamatórias como IL-1, IL-6 e TNF- $\alpha$ , e também, disfunção de neurotransmissores (DEMITRACK et al., 1992; PENNER; PAUL, 2017; DAVIES & DURES, 2021).

As monoaminas, estão intrinsecamente ligadas ao controle do sistema imunológico ao interagir com células do sistema imune inato e adaptativo (CARANDINI et al., 2021). Além disso, são parte importante da motivação, atenção e humor, controlados pelos núcleos monoaminérgicos do tronco cerebral no SNC, que quando comprometidos, pode alterar a liberação de neurotransmissores (COOLS & ARNSTEN et al., 2022). Estudos mostram, que o acúmulo de adenosina devido ao aumento da atividade neural, suprime a transmissão excitatória durante uma atividade prolongada e que a depleção de catecolaminas, prejudica a memória e atenção, supondo que este prejuízo leve à fadiga mental (MARTIN et al., 2018; ALVES et al., 2019; CROXSON; KYRIAZIS; BAXTER, 2011; CARANDINI et al., 2021).

Em humanos, para avaliar de forma subjetiva a fadiga mental, podemos utilizar a escala analógica visual (EVA) e a escala de severidade de fadiga (DITTNER; WESSELY; BROWN, 2004; PENNER & PAUL 2017). Outras escalas, avaliam diferentes aspectos e possíveis fatores desencadeantes da fadiga, como Inventário multidimensional de fadiga (mais abrangente) e escalas mais específicas para determinada condição, como escala de fadiga de piper (para pacientes com câncer). Como foco na avaliação cognitiva pode-se utilizar o Mini exame do Estado Mental e Avaliação cognitiva de Montreal (MoCA) (DITTNER; WESSELY; BROWN, 2004; PENNER & PAUL, 2017). Alguns estudo, mostram resultados de eletroencefalografia, ressonância magnética funcional e rastreamento ocular (QI et al., 2019; TSENG et al., 2021).

Em modelo animal, a avaliação da fadiga mental pode ser feita através de testes específicos, como: teste de reconhecimento social, teste de reconhecimento de objetos, labirinto de barnes, labirinto aquático de Morris, entre outros. Pode-se ainda, avaliar a coordenação motora pelo teste de rota-rod e testes físicos (corrida, natação) para mensuração da capacidade física, afim de identificar o impacto da fadiga mental na capacidade física, além de análises bioquímicas (DOUGHERTY et al., 2019; WU et al., 2007; AGUIAR et al., 2009).

### **1.2.2 Fadiga física**

A fadiga física é definida como um declínio da força máxima muscular, induzida pelo exercício. A fadiga física está diretamente relacionada a diferentes mecanismos, a nível central e a nível periférico. A nível central, a fadiga física ocorre devido a uma falha do mecanismo neuromotor e diminuição dos potenciais de ação das unidades motoras, devido ao

declínio de atividade do córtex motor e neurônio motor (BOYAS & GUÉVEL, 2011). A fadiga periférica, está diretamente ligada à falha na regeneração da moeda energética (ATP), prejuízo nas bombas de  $\text{Ca}^{+}$ , esgotamento das reservas de glicogênio, aumento das concentrações de lactato e diversas alterações que levam a um prejuízo de desempenho, que após o período de descanso, mostra um retorno do homeostático (MORITZ et al., 2017; HARGREAVES et al., 2020). A fadiga física, pode ser ainda dividida em fadiga aeróbica e anaeróbica.

Na literatura, os receptores adenosinérgicos têm demonstrado importante correlação com a fadiga física (GRAHAM et al., 1995; DAVIS et al., 2003; CLAGHORN et al., 2017). Em 2001, Ongini e colaboradores, mostraram uma comparação das diferentes afinidades dos antagonistas cafeína, SCH 58261 e KW2000 pelo receptor A<sub>2A</sub>, que vêm sendo estudado amplamente para o tratamento de doenças neurológicas, depressão, ansiedade, obesidade e aumento da resistência ao exercício (ONGINI et al., 2001). Outro estudo, utilizando camundongos transgênicos com deleção seletiva do A<sub>2A</sub> R, mostrou que os receptores adenosinérgicos A<sub>1A</sub> e A<sub>2A</sub>, estão intrinsecamente ligados a diminuição da fadiga durante o exercício físico em teste incremental máximo em esteira, através do antagonismo destes receptores, mostrando ser um importante alvo para a terapêutica (AGUIAR et al., 2020).

A fadiga física também pode ser avaliada por escalas, como escala de Borg. Além disso, testes como caminhada de 6 minutos e Shuttle Walk Test, são comumente utilizados para estimar a capacidade do indivíduo (BROWN; WISE, 2007). Nos testes ergoespirométricos, a análise é feita de forma quantitativa, através de equipamentos metabólicos que analisam o consumo de oxigênio durante o exercício. Em humanos, assim como em modelo animal, os testes incrementais tanto de velocidade quanto de inclinação com análise de gases, identificam a intensidade do exercício (por meio do  $\dot{V}O_{2\text{max}}$ ) e são considerados padrão ouro para análise da aptidão cardiorespiratória (LÖLLGEN & LEYK et al., 2018; AGUIAR et al., 2020).

### *1.2.2.1 Fadiga ao exercício anaeróbico*

O exercício físico de curta duração e alta intensidade, utiliza do sistema ATP/PCR para produção de energia, como em corridas curtas, levantamento de peso e natação em poucos metros, sendo a nossa fonte de energia imediata (EGAN; HAWLEY; ZIERATH, 2016). O exercício de forma regular, faz com que ocorra um aumento da capacidade dessa energia quase instantânea. Quando este mecanismo entra em fadiga, ocorre a perda da potência

máxima, que consiste na falha do mecanismo em fornecer energia (MCARDLE et al., 2019). Ao realizar o exercício por mais tempo e com menor intensidade, utilizamos da glicólise anaeróbica predominantemente, que através de um processo não oxidativo, leva a produção de energia para atividades até 90s. A glicólise anaeróbica, possui a capacidade de gerar ATP de forma rápida, através de 10 reações químicas, ocorre em células que não apresentam quantidade suficiente de oxigênio (EGAN; HAWLEY; ZIERATH, 2016; MELKONIAN; SCHUR, 2019).

A glicólise anaeróbica utiliza como substrato o glicogênio, armazenado no fígado, músculos e a glicose livre, captada por receptores GLUT4, que dependem da ação da insulina para realizar essa captação. Como produto final dessa cascata de reações, temos a formação de um composto, chamado de piruvato, que pode ser convertido a alanina, oxalacetato, acetil-coA e lactato (MCARDLE et al., 2019). As fibras musculares da via glicolítica aeróbica, utilizam predominantemente, fibras musculares rápidas, que possuem menos mitocôndrias, produzem menos ATPs e mais ácido láctico (BROOKS et al., 2020). Apesar da via glicolítica anaeróbica ser importante no início de produção de energia, ela não gera ATP suficiente para realizar uma mesma atividade por muito tempo, levando a uma fadiga anaeróbica e consequente perda de força e potência (BOYAS & GUÉVEL, 2011).

A fadiga anaeróbica, está diretamente ligada ao ácido láctico, que em meio aquoso, se dissocia em  $C_3H_5O_3$  e  $H^+$ , levando a uma acidose metabólica. A acidose pode levar a fadiga neuromuscular, fadiga pela alteração da condutância de cálcio e fadiga pela estimulação de fibras nervosas (CAIRNS, 2006; BOYAS & GUÉVEL, 2011). Em meio aquoso, o ácido se dissocia em lactato e hidrogênio, que por sua vez, gera uma acidose metabólica, levando a uma menor atividade da fosfofrutocinase (PFK). O  $H^+$  também pode causar interferência na fenda sináptica, dificultando a ligação da acetilcolina liberada durante o exercício, em seu respectivo receptor, levando a uma alteração de desempenho, gerando uma fadiga neuromuscular (SUNDBERG & FITTS, 2019; BROOKS et al., 2020).

A fadiga pode ser ocasionada pela alteração da condutância de cálcio, ocorre pela interferência do  $H^+$  na ligação de  $Ca^{+2}$  com a troponina, além de inibir a ressíntese de ATP e prejudicar a bomba  $Ca^{+2}ATPase$ , que depende de ATP para levar o  $Ca^{+2}$  de volta ao retículo sarcoplasmático, com isso, há um prejuízo da contração e do relaxamento muscular. Por fim, os íons de hidrogênio estimulam as fibras tipo C, levando a dor em queimação. Esses mecanismos, devido a falha do mecanismo anaeróbico, levam a perda de força e potência muscular (HULTMAN; SPRIET; SÖDERLUND, 1986; SUNDBERG & FITTS, 2019). A fadiga anaeróbica consiste no acúmulo de lactato e declínio da potência mecânica, que é a

capacidade de deslizamento entre actina e miosina por meio do gasto de ATP fornecido pela via.

### *1.2.2.2 Fadiga ao exercício aeróbico*

A glicólise anaeróbica não consegue promover, sozinha, energia para sustentar um exercício por um longo tempo. Devido a isso, nosso corpo utiliza outros mecanismos para continuar a produção de energia necessária. Algumas moléculas de piruvato do citoplasma da célula, são captados nas membranas das mitocôndrias e reagem com o oxalacetato (formando o citrato), dando início ao ciclo do ácido cítrico (ciclo de krebs) (MCARDLE et al., 2019). No ciclo de Krebs, vamos ter a formação de NADH e FADH, que possuem potencial eletroquímico, sendo oxidados na cadeia transportadora de elétrons, gerando como saldo a formação de ATPs (MELKONIAN & SCHURY, 2019; EGAN; HAWLEY; ZIERATH, 2016). A cadeia transportadora de elétrons ao realizar o processo de passagem das moléculas pelos citocromos, pode gerar átomos reativos, denominados de radicais livres (ROS). Estes, podem interagir com outras moléculas e gerar um prejuízo metabólico, contribuindo para o processo de fadiga (LIU; FISKUM; SCHUBERT, 2002; ZHANG & GAO, 2021).

O  $\dot{V}O_2\text{max}$ , é identificado como o maior volume de oxigênio consumido dentro da atividade realizada e seu valor está diretamente relacionada a ressíntese de ATP. Exercícios de maior duração e intensidade, necessitam de um consumo maior de oxigênio. Isso ocorre, para que  $O_2$  seja transportado e utilizado no processo de reações que transformam substratos em energia (BOSQUET; LÉGER; LEGROS, 2002; ZHANG & GAO, 2021 ). Quando o gasto energético do exercício, em exercícios máximos, demanda mais consumo de oxigênio do que o  $\dot{V}O_2\text{max}$  do indivíduo, ocorre um déficit de  $O_2$  e chega a exaustão (BOSQUET; LÉGER; LEGROS, 2002; AGUIAR et al., 2020, 2021). Junto ao aumento do consumo de oxigênio, temos o aumento da formação de lactato, que está diretamente ligada a NAD/NADH. O lactato é produzido em grande quantidade em exercício de alta intensidade, também pode ser utilizado para gerar energia (ciclo de core). No entanto, ao atingir seu limiar anaeróbico temos o seu acúmulo, quando a produção excede a sua oxidação (VOLTARELLI; GOBATTO; DE MELLO, 2022; SHI et al., 2020).

No exercício físico aeróbico extenuante, temos uma hiperventilação, com o intuito de remover o dióxido de carbono, gerando uma relação maior de dióxido de carbono expirado do que oxigênio consumido pelos pulmões. A fadiga aeróbica, também está diretamente ligada a esta razão de troca respiratória (RER), que compreende a troca  $VCO_2/\dot{V}O_2$ , atingindo níveis

superiores a 1,00 RER. Em humanos saudáveis, o RER é um índice que mostra de forma indireta, a capacidade oxidativa do músculo através dos carboidratos (GOEDECKE et al., 2000; AGUIAR et al., 2020,2021). Além disso, a potência no exercício aeróbico extenuante diminui quando as reservas de glicogênio acabam, devido a depleção do glicogênio hepático e muscular e da liberação lenta de energia pelas gorduras. No entanto, o treino aeróbico constante, faz com que ocorra um aumento da oxidação de ácidos graxos e o glicogênio seja preservado por mais tempo (BALTGALVIS et al., 2012; GOEDECKE et al., 2000; GREEN et al., 2020). A potência pode ser calculada pela conversão padrão do trabalho vertical, massa corporal e velocidade de corrida (AGUIAR et al., 2020,2021)

### 1.3 ORIGEM DO LIPOPOLISSACARÍDEO

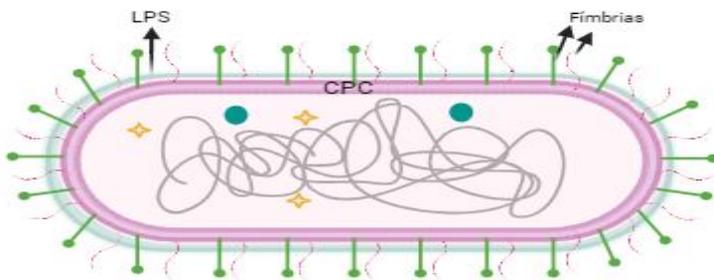
Por natureza, a *Escherichia Coli* (*E. Coli*) está presente em nossos organismos, mais especificamente, no cólon do nosso trato gastrointestinal. Sua colonização começa nas nossas primeiras horas de vida e então, passa a habitar nosso organismo com harmonia, em indivíduos saudáveis, que raramente leva a algum caso infeccioso (ESCHERICH, 1988; DRASAR et al. 1974; KAPER; NATARO; MOBLEY, 2004). Em alguns casos, como em indivíduos imunocomprometidos, a bactéria pode levar a infecções mais graves devido a ruptura de barreiras gastrointestinais (KAPER; NATARO; MOBLEY, 2004; MAGNASCO et al., 2021). Descoberta em 1884 como *Bacterium Coli Commune*, a *E. Coli* se tornou uma das bactérias mais utilizadas nos campos de pesquisa, visto a sua facilidade de manipulação, rapidez de crescimento, variedade de Cepas e também, o seu vasto potencial em mimetizar modelos patogênicos (ESCHERICH, 1988; CLERMONT et al., 2013; CHAUDHURI; HENDERSON 2012).

A *E.Coli* é uma bactéria gram negativa que expressa diferentes determinantes de virulências. Ela e outras bactérias popularmente conhecidas, como a *Salmonella* e *klebsiella pneumoniae*, pertencem ao grupo de enterobacteriaceae. A *Escherichia Coli* possui diferentes Cepas patogênicas que podem ser divididas em dois grandes grupos, as infecções gastrointestinais e extraintestinais, podendo ainda ser dividida mais detalhadamente, em diferentes filogrupos: A, B1, B2, C, D, E, F, G (CLERMONT et al., 2013; CHAUDHURI; HENDERSON 2012; JOHNSON; RUSSO, 2002). Em sua popularidade, esta bactéria é conhecida por gerar diversos tipos de patogêneses no meio gastrointestinal (NATARO, 1998; BALDELLI, et al., 2021). Além disso, a colonização de bactérias gram negativas em outros

sistemas, mostra um crescente problema epidemiológico por estar associada a sepse/meningite e infecções no trato urinário (JOHNSON; RUSSO, 2002; MAZZARIOL; BAZAJ; CORNAGLIA, 2017)

As bactérias Gram-negativas, apresentam uma membrana externa e uma membrana interna, sendo uma responsável por circundar o citoplasma e outra que separa o ambiente-célula (NUCCI; ROCHA; RENDUELES, 2022). Essas bactérias apresentam em sua parede celular fatores de virulência, como a cápsula externa, fímbrias, proteínas de membrana externa e de superfície e o LPS (LÜDERITZ et al., 1971; NUCC; ROCHA; RENDUELES, 2022). Estes levam a capacidade de gerar dano celular, aumento da permeabilidade microvascular e consequentemente migração de neutrófilos e outras células inflamatórias, gerando uma resposta imunológica (SIMPSON; TRENT, 2019). De acordo com o fator de virulência escolhido para o nosso trabalho para o modelo de inflamação, vamos agora entender melhor sobre o LPS e seu mecanismo de ação.

**Figura 1.** Imagem ilustrativa de uma bactéria gram-negativa e a localização do lipopolissacarídeo



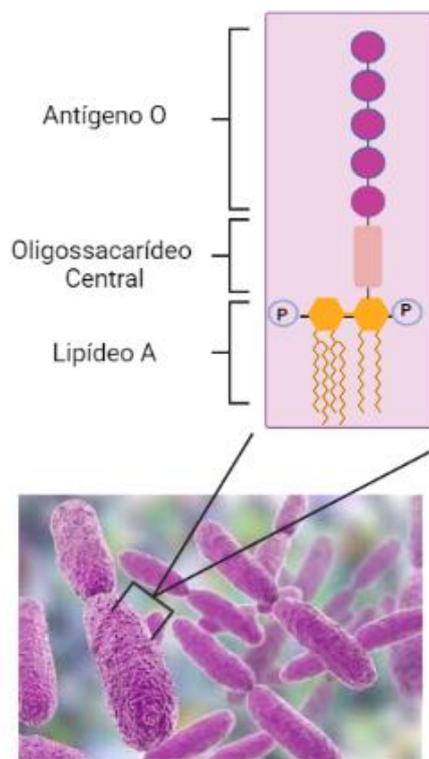
**Figura 1.** As bactérias gram negativas, apresentam em sua estrutura o LPS, sendo este um fator de virulência capaz de gerar dano celular. Na ilustração, podemos observar ainda a cápsula interna e externa, fímbrias e componentes internos. Fonte: autora, produzido via Biorender (2023).

### 1.3.1 O Lipopolissacarídeo e o seu mecanismo de ação

O LPS um lipopolissacarídeo presente na membrana da célula bacteriana, no folheto externo da membrana externa, sendo composto por três componentes: lipídeo A, antígeno O e um núcleo polissacarídeo (LÜDERITZ et al., 1971). Apesar do LPS ter uma estrutura bem delimitada, sabe-se que há variações em nível espécie e estirpe. Sendo um dos grandes responsáveis por desencadear dano e por estar presente em diferentes patógenos, o LPS é

definido como um padrão molecular associado a patógenos (PAMP) e é reconhecido como uma endotoxina pelo organismo humano (HEINE; RIETSCHEL; ULMER, 2001; SIMPSON; TRENT, 2019). O LPS possui por função a proteção desta bactéria, como uma barreira contra agentes danosos, tendo o lipídio A como um importante fator contra peptídeos antimicrobianos e antibióticos, fazendo com que ele seja mutável pelas bactérias gram-negativas, a fim de manter a sua sobrevivência (LÜDERITZ; GALANOS; RIETSCHE, 1981; IMOTO et al., 1987; KAWAHARA et al., 2021).

**Figura 2.** Lipopolissacarídeo



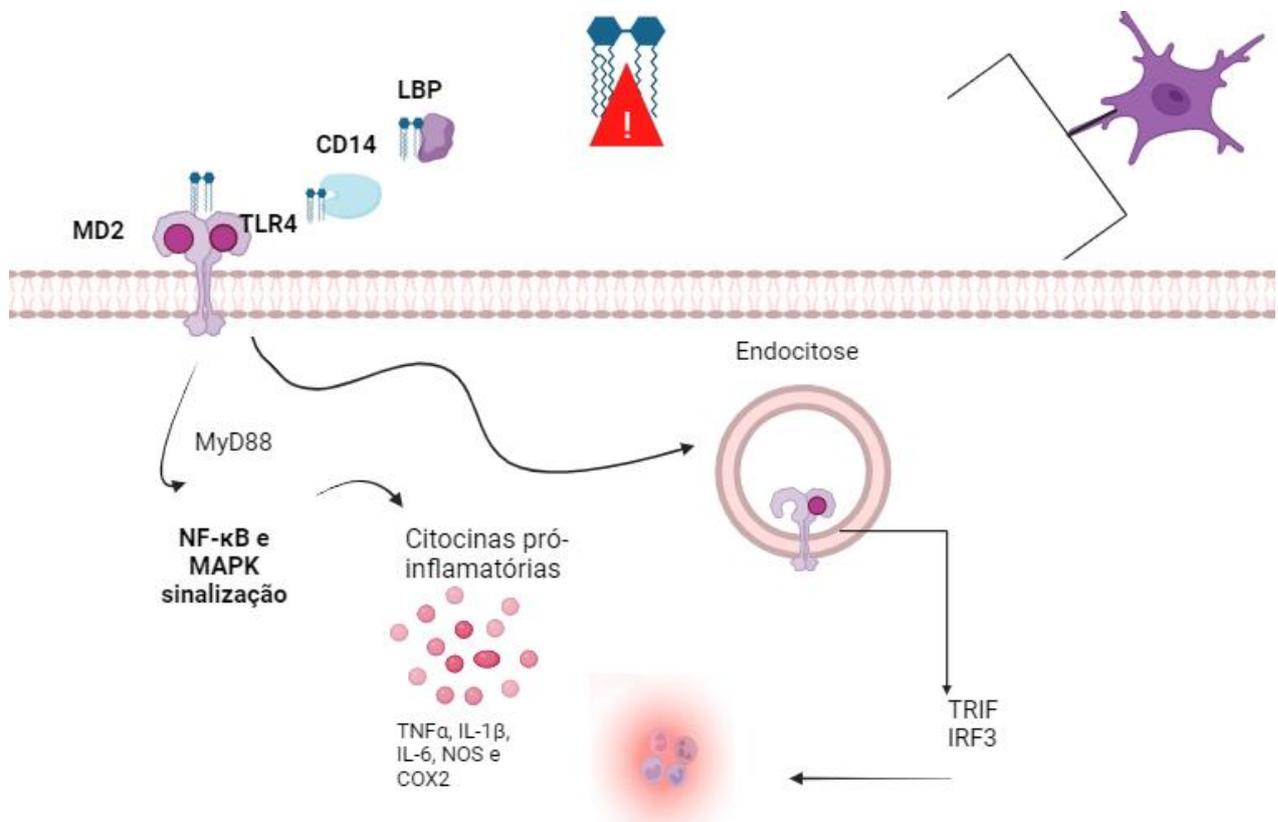
**Figura 2.** Na figura é visto o LPS e sua estrutura é composto por um componente lipídico A anfipático e polissacarídeos hidrofílicos do núcleo e antígeno O, sendo que o lipídio A é o principal indutor de respostas imunológicas. Fonte da foto microscópica: Google imagens. Criado pela autora via biorender (2023).

Visto que algumas bactérias colonizam naturalmente nosso organismo, para manter o equilíbrio homeostático em funções fisiológicas normais, existe um ajuste fino dos mecanismos de neutralização, a fim de não permitir uma condição imunológica exacerbada (KUMAR et al., 2020; PÉREZ-HERNÁNDEZ et al., 2021). Como visto anteriormente, a nível celular, o LPS atua como um PAMP, gerando uma resposta inflamatória em cascata. Como um dos principais meios de desencadear resposta a este antígeno, temos o agonismo do receptor toll like-4 (TLR4) (SHIMAZU et al., 1999; SIMPSON; TRENT, 2019). As células imunológicas como macrófagos, monócitos, células dendríticas e neutrófilos, apresentam este receptor em sua superfície celular e sua ativação leva à uma cascata de sinalização pelo

complexo TLR4, gerando uma resposta imune inata (SHIMAZU et al., 1999; PARK et al., 2009). A sinalização dessa cascata depende da atuação de algumas proteínas, como a apresentadora de LPS e CD14 (ANDRÄ et al., 2010; TAN; KAGAN 2014).

Para que ocorra a ativação do TLR4, o LPS é carregado por uma proteína transportadora (LBP) que leva-o até a proteína CD14, que possui como principal função, a apresentação do LPS para outras proteínas. Este por sua vez, apresenta o antígeno para o complexo TLR4-MD2 (figura 3), passando por um processo de dimerização (ANDRÄ et al., 2010; TAN, KAGAN 2014). A dimerização do complexo TLR4-MD2 leva a endocitose, que por sua vez pode levar a ativação de outra via (TRIF/IRF3) e aumento da resposta inflamatória, sendo esta uma via independente de MyD88 (MAZGAEEN; GURUNG 2019). A dimerização também leva a uma formação de um sítio de ligação para MyD88, ocasionando na ativação do fator de transcrição- $\kappa$ B e de proteína quinase ativada por mitógeno (MAPK) levando a transcrição de várias proteínas pró-inflamatórias como interleucina-6 (IL-6), interleucina beta (IL- $\beta$ ) e fator de necrose tumoral alfa (TNF $\alpha$ ) (YAMAMOTO et al., 2003).

**Figura 3.** Mecanismo de ação TLR4-LPS

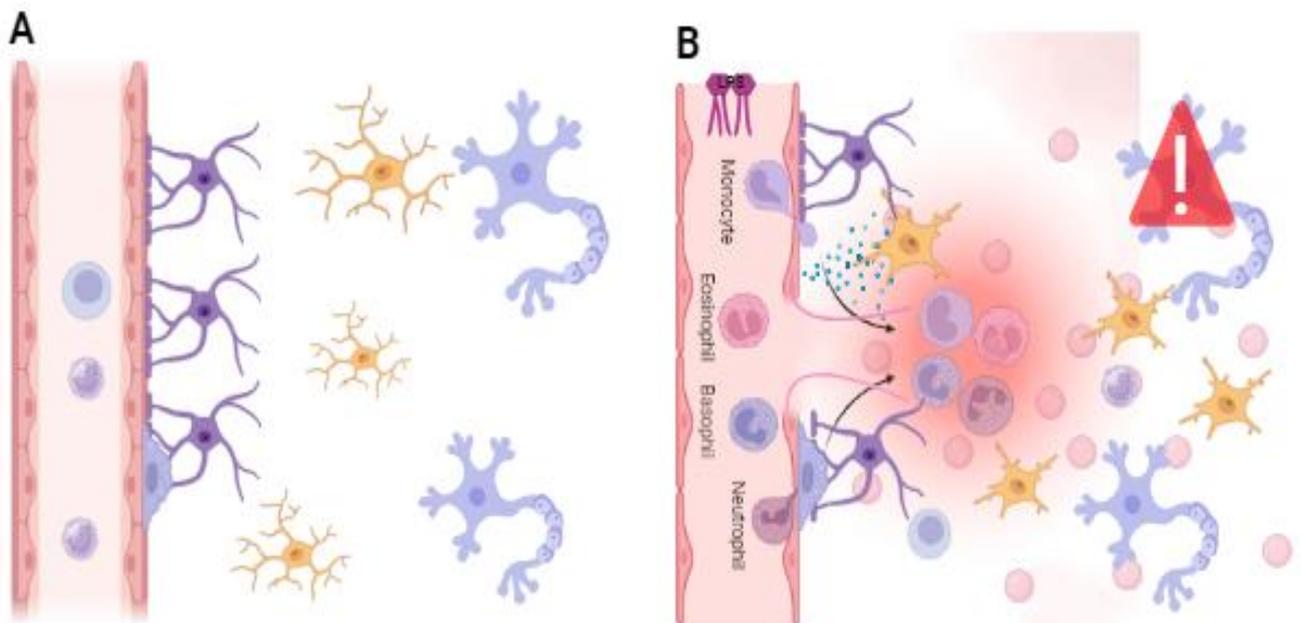


**Figura 4.** O LPS é levado pela proteína LBP até o CD14, que apresenta o antígeno para o TLR4. A ligação de MYD88, leva a ativação da cascata de sinalização por NF- $\kappa$ B e MAPK, levando a liberação de citocinas pró-

inflamatórias. O complexo TLR4-MD2, pode ainda passar por um processo de endocitose, ativando a sinalização de outra via e aumentando ainda mais a produção de citocinas pró-inflamatórias. LPS- lipopolissacarídeo. LBP- proteína de ligação ao LPS. CD14- agrupamento de difinenciação 14. MY88- Adaptador de transdução de sinal imunológico inato. NF-k $\beta$ - fator de transcrição fator nuclear kappa  $\beta$ . MAPK - proteína quinase ativada por mitógeno

Os receptores TLRs, também são expressos em células gliais, que são necessárias para nutrição e proteção dos neurônios (figura 4-A), que constantemente monitoram o ambiente (RAHIMIFARD et al., 2017). Em doenças neurológicas, como doenças neurodegenerativas, o papel das células gliais é invertido e a microglia passa a gerar dano através da liberação de fatores citotóxicos, como óxido nítrico (NO), prostaglandina E2 (PGE2), interleucina 1  $\beta$  (IL- 1  $\beta$ ) e peróxidos (FRANK-CANNON et al., 2009), pode ainda levar a ativação excessiva de canais iônicos e modular a liberação de neurotransmissores (HANISCH & KETTENMANN et al., 2007). Sua ativação em excesso leva a uma neurotoxicidade e pode ocasionar a morte de neurônios, levando assim, a um prejuízo cognitivo e motor (figura 4-B) (HOOGLAND et al., 2015).

**Figura 4.** Mudança de estado de atividade da microglia



**Figura 3.** Em equilíbrio homeostático, as células gliais ficam em estado de vigilância, fisiologicamente adequado (A). Após um desequilíbrio, como invasão do LPS detectada pelas células imunológicas, a microglia muda a sua atividade para um estado reativo. De forma transitória, essas alterações são controladas e o equilíbrio

homeostático reestabelecido. No entanto, de forma exacerbada e contínua, pode levar ao comprometimento das células gliais e dos neurônios (B). Adaptado de HANISCH & KETTENMANN, 2007.

Além disso, LPS também pode ser reconhecido por canais de potencial receptor transitório, presentes em neurônios sensoriais e também células epiteliais (LIU et al., 2020). Em neurônios, a ativação do receptor TRPVA1 leva a um aumento de cálcio intracelular que consequentemente dispara o potencial de ação gerando a liberação de peptídeos. Em via aérea, ele atua no receptor TRPV4, e aqui, aumenta a produção de óxido nítrico com o intuito de eliminar o hospedeiro (MESEGUER et al., 2014; MAZGAEEN; GURUNG 2019; WANG et al., 2019).

### **1.3.2 Modelos de inflamação por LPS**

De forma sistêmica, o LPS gera um comportamento tipo doentio, caracterizado por um conjunto de alterações comportamentais que decorrem da ativação imunológica inata e liberação de citocinas inflamatórias, podendo levar o animal a perda de peso, anedonia, inibição de comportamentos habituais, ansiedade, alterações cognitivas, além de fadiga e hiperealgesia (DANTZER, 2001; SENS et al., 2017). Segundo a literatura, camundongos e ratos, administrados com LPS via intraperitoneal, de forma aguda ou crônica (WILLARD, HAUSS-WEGRZYNIAK; WENK, 1999; ZHAO et al., 2020), tendem a alcançar um estado inflamatório nas primeiras horas após a administração do LPS, levando a um estado doentio do animal (VALLES et al., 2002).

Uma única injeção de LPS via intraperitoneal, leva a uma cascata de citocinas inflamatórias, como visto anteriormente na abordagem do mecanismo de ação do LPS (SIMPSON; TRENT, 2019), mostrando evidências de alteração do estado imunológico após 2 horas. Após 4 horas da administração via i.p de LPS, temos aumento significativo de IL-1beta, IL-2, IL-6, IL-10, TNF-a, GSH-t (GODBOUT et al., 2005; HENRY et al., 2008). As doses de administração, também são variadas 100 µg/kg, 0,33 mg/kg, 250 µg/kg/ip. Estudos utilizando baixa dose, 100 (µg/kg), mostram que o LPS é capaz de produzir uma inflamação sistêmica leve ( ABDEL-SALAM et al., 2012), podendo levar a um prejuízo na consolidação de memória em camundongos após 4 horas (SKELLY et al., 2019; ZHAO et al., 2019).

Com uma única injeção de LPS 0,33 mg/kg, ip, já é visto um prejuízo físico, comprometimento do metabolismo da dopamina no estriado e diminuição de tolerância à

glicose (DE BEM ALVES et al. ,2021). Além disso, a dose de 0.33mg/kg, mostra um efeito de elevação de até 100 vezes, quando comparado ao controle, dos níveis de IL-1 $\beta$  no cérebro, mostrando ainda um prejuízo na aptidão física dos animais em teste incremental máximo em esteira (DA LUZ SCHEFFER et al., 2019). Nessa dosagem, os camundongos mostram uma melhora dos sinais inflamatórios após 24 horas da administração.

Em 2019, Badshah e colaboradores, demonstraram que a administração de LPS via intraperitoneal 250  $\mu$ g/kg/ip, durante duas semanas em dias alternados, ocasionou um aumento de espécies reativas de oxigênio, redução de expressão de marcadores sinápticos, eritróide-2 (Nrf2) e da enzima hemeoxigenase 1 (HO-1), além do aumento do regulador de apoptose (Bax) e caspase-3 clivada, gerando estresse oxidativo e a neuroinflamação. Em modelos de sepse, a infecção sistêmica com alta dosagem LPS (10 mg/kg), possui o intuito de gerar uma resposta mais exacerbada e com um alto comprometimento fisiológico sistêmico (BANG et al., 2021; SALMANI et al., 2022).

## **2. JUSTIFICATIVA**

A fadiga é uma sensação experimentada por alguma alteração fisiológica e/ou patológica, podendo ser aguda ou crônica, que é influenciada por alterações tanto a nível de sistema nervoso central (SNC), quanto a nível de sistema nervoso periférico (SNP). O exercício, praticado de forma regular, leva a melhoras físicas e mentais, melhora da disposição, qualidade de vida e mostra ser um importante agente protetor em diferentes patologias. A carga inflamatória, envolvida no processo fisiopatológico de diferentes doenças, leva a consequências no desempenho físico e mental, sendo a fadiga uma das principais queixas. Diante dos benefícios do exercício, não temos estabelecido na literatura, dados consistentes, quanto à alterações nos índices de fadiga aeróbicos e anaeróbicos que o exercício pode proporcionar e o quanto estes índices de fadiga, podem ser influenciados na manifestação do processo inflamatório sistêmico.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral**

Avaliar o potencial protetor do exercício na fadiga de camundongos tratados sistematicamente com LPS E. Coli.

#### **3.2 Objetivo específico**

1. Investigar os efeitos do exercício de roda de corrida voluntária nos índices fisiológicos de desempenho aeróbico ( $W$ ,  $\dot{V} O_2$ , RER, lactato), em modelo de LPS, através do teste ergoespiométrico em esteira metabólica.
2. Investigar os efeitos do exercício de roda de corrida nos índices de desempenho anaeróbico (força muscular), em modelo de LPS, através do pico de força relativo e tempo de prensão.

## 4. METODOLOGIA

### 4.1 ANIMAIS

Definimos 56 camundongos suíços, machos, adultos (8-10 semanas de idade, peso  $25-45\text{g} \pm 2$ ) provenientes do Biotério Central da UFSC, alocados em gaiolas coletivas de plástico para roedores (dimensões 17 x 31 x 38 cm), localizadas no Laboratório e biologia do exercício físico (Labioex) do Departamento de Ciências da Saúde - Centro de Ciências Tecnologia e Saúde (CTS/ARA/UFSC). O espaço possui ambiente climatizado – ar condicionado Split ajustado para  $22 \pm 2^\circ\text{C}$  e ciclo claro/escuro de 12 horas (luzes acesas às 7h), com acesso livre à água potável, fresca e limpa atendendo os padrões de potabilidade (Portaria N° 2.914, de 2 de dezembro de 2011/MS). Ração comercial para roedores (oferecida ad libitum) e maravalhas fornecidas pelo Biotério Central da UFSC. O protocolo CEUA n° 3552210222, que está aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Santa Catarina (CEUA/UFSC) na reunião de 06/06/2022.

#### 4.1.2 Distribuição e roda de corrida voluntária

Os animais foram alocados em 3 por caixa, a fim de proporcionar que todos conseguissem ter acesso à roda de corrida. Primeiramente, os animais foram divididos e passaram 3 dias na caixa. Após isso, foi então posicionada a roda de corrida que permaneceu no mesmo lugar durante todas as 6 semanas (AGUIAR JR et al., 2013). Os animais controle, tiveram acesso a uma roda sem o suporte inferior, o qual não permitia seu movimento. A observação dos animais na roda de corrida, foi realizada visualmente durante visitas e rotinas ao biotério, realizada pelo grupo de pesquisa Labioex.

**Figura 6.** Roda de corrida voluntária e posição na caixa



**Figura 6.** Roda de corrida utilizada para o treinamento aeróbico durante 6 semanas. Ao lado esquerda, podemos observar um grupo sendo monitorado durante a limpeza do biotério. Ao lado direito, a roda de corrida com seu suporte inferior que faz a roda girar, sendo este retirado nos grupos dos animais sedentários.

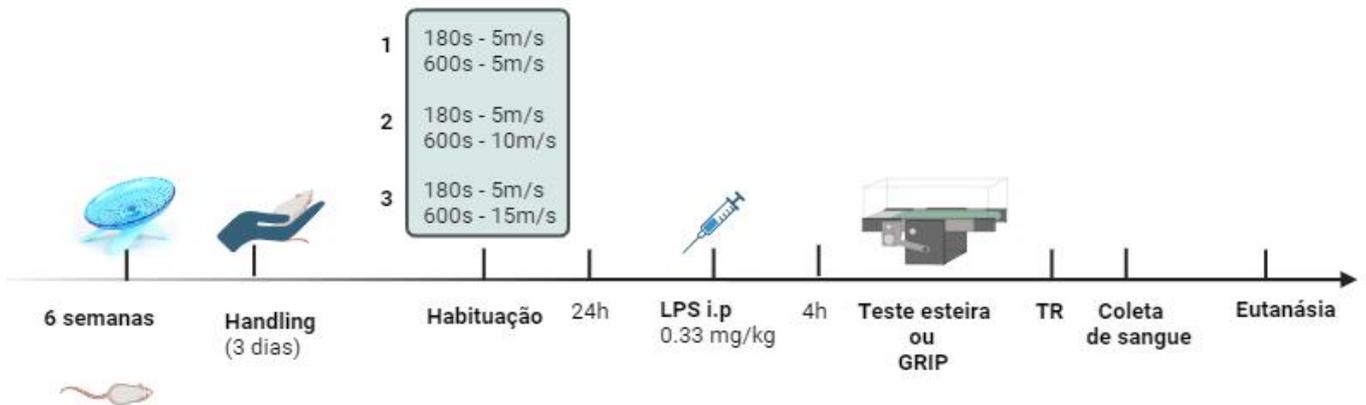
#### 4.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Os testes físicos foram realizados no período da tarde, após 4 horas da administração do LPS (0.33 mg/kg). Após teste máximo de corrida em esteira ou teste de força, realizamos a aferição da temperatura retal e coleta de sangue (grupo esteira), seguido pela eutanásia do animal.

Os grupos experimentais foram compostos por 4 grupos, com um N de 7-8 animais por grupo:

1. SEDENTÁRIO (SALINA) + EXERCÍCIO (SALINA)
2. SEDENTÁRIO (LPS 0,33 mg/kg) + EXERCÍCIO (LPS 0,33 mg/kg)

**Figura 11.** Delineamento experimental.



**Figura 11.** Os animais correram durante 6 semanas em roda de corrida, após este período, passaram por 3 dias de habituação. O LPS foi administrado no período da manhã e ao passar 4 horas, os animais foram submetidos à corrida máxima em esteira ou teste de força máxima. Posteriormente, realizamos a aferição da temperatura retal e coleta de sangue, seguido pela eutanásia.

## 4.2 HANDLING

O manuseio inadequado pode comprometer os resultados do trabalho e alterar o comportamento do animais, que podem ficar mais estressados e agressivos (GOUVEIA & HURST et al., 2019; SENSINI et al., 2020). Todos os animais passaram por procedimento de manuseio e habituação, com o intuito de familiarizar o animal com o pesquisador e com o teste que ele realizaria.

Durante três dias, os animais foram manuseados por 5 minutos, simulado injeção intraperitoneal e colocados dentro da esteira desligada por 5 minutos. Após serem retirados da esteira, receberam um estímulo, em região retal, a fim de simular o termômetro retal. Ao final, receberam uma semente de girassol como recompensa. O handling continuou sendo realizado durante os três dias de habituação, conforme demonstrado no tópico seguinte.

## 4.3 MODELO DE INFLAMAÇÃO

Estudo mostram, que a administração sistêmica de LPS é capaz de induzir inflamação, através dos efeitos pró-inflamatórios (HENRY et al., 2009; FOSTER et al., 2021). A dose de 0.33mg/kg de LPS é capaz de gerar fadiga e comportamento doentio após 4 horas da

administração (DE BEM ALVES et al.,2021; DA LUZ SCHEFFER et al., 2019). A administração via i.p foi realizada 4 horas antes dos testes físicos, modelo já padronizado em nosso laboratório em pesquisas anteriores (DE BEM ALVES et al.,2021).

#### 4.4 TESTES ERGOESPIROMÉTRICO EM ESTEIRA

A capacidade máxima (100%) de corrida dos animais foi analisada, após 4 horas da administração do LPS com metade dos animais treinados. A análise da fadiga através da ergoespirometria, permitiu avaliar o consumo máximo e submáximo de oxigênio  $\dot{V}O_2$ , também produção de  $CO_2$  ( $VCO_2$ ) e razão de troca respiratória (RER – Respiratory Exchange Ratio =  $VCO_2 / \dot{V}O_2$ ), estimado pela câmara metabólica conectada à esteira. A oferta de gases atmosférico ( $\approx 21\% O_2$ ,  $\approx 0,03\% CO_2$ ) foi renovado a uma taxa de 1200 mL/min. A esteira foi inclinada a  $1.7^\circ$  e o choque ajustado a 0.2mA. A potência foi estimada na conversão padrão do trabalho vertical, massa corporal e velocidade de corrida (AGUIAR et al., 2018, 2020).

##### 4.4.1 Descrição da habituação e teste máximo em esteira:

A habituação foi realizada na semana anterior à infecção.

**Habituação dia 1:** Os animais foram colocados durante 5 minutos na esteira, parada e choque ligado 0.2mA. Após 5 minutos parado, a esteira foi ligada a uma velocidade de 5m/s durante 120 segundos (aquecimento) e mais 600 segundos na mesma velocidade.

**Habituação dia 2:** Os animais foram colocados durante 5 minutos na esteira, parada e choque ligado 0.2mA. Após 5 minutos, a esteira foi ligada a uma velocidade de 5m/m, durante 120 segundos, com velocidade alterada para 10m/s durante 600 segundos.

**Habituação dia 3:** Os animais foram colocados durante 5 minutos na esteira parada e choque ligado 0.2mA. Após 5 minutos, a esteira foi ligada a uma velocidade de 5m/m durante 120 segundos, com velocidade alterada para 15 m/s durante 600 segundos.

**Teste máximo:** Após 48 horas, os animais foram colocados durante 15 minutos com esteira parada, após isso o teste foi iniciado, com aumento progressivo da velocidade de 5m/m a cada 120 segundos. O teste foi interrompido após 3 choques consecutivos em 10 segundos.

Tabela 1. Teste incremental máximo

<b>Estágio</b>	<b>Tempo</b>	<b>Velocidade m/min</b>	<b>Inclinação graus</b>	<b>Estímulo mA</b>
Estabilização sensor de gás	15 min	0	1.7°	0.2
Aquecimento	120s	5	1.7°	0.2
1	120s	5	1.7	0.2
2	120s	10	1.7	0.2
3	120s	15	1.7	0.2
4	120s	20	1.7	0.2
5	120s	25	1.7	0.2
6	120s	30	1.7	0.2
7	120s	35	1.7	0.2
8	120s	40	1.7	0.2
9	120s	45	1.7	0.2
10	120s	50	1.7	0.2

#### 4.4.2 Esteira metabólica: análise de gases

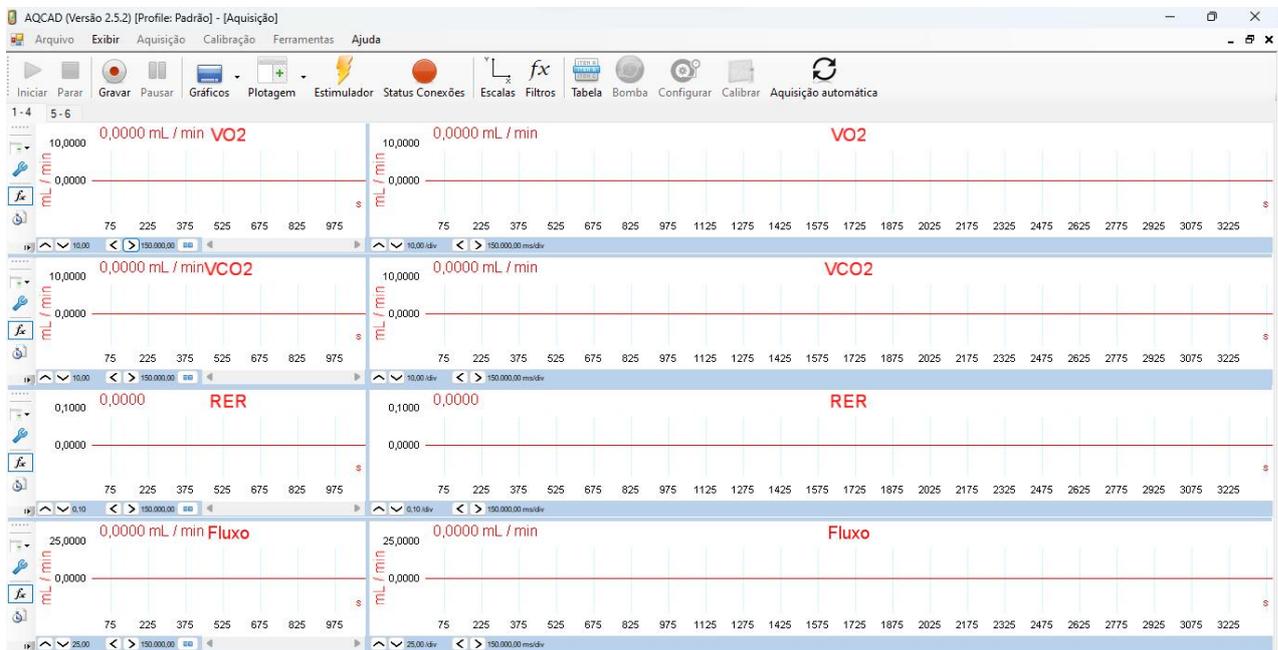
A esteira metabólica (Bonther, Ribeirão Preto, SP, Brasil) é constituída por 2 aparatos principais, a esteira e o analisador de gases (figura 7). Durante todo o teste os níveis de CO<sub>2</sub>,  $\dot{V}O_2$  e RER, foram observados através do software AQCAD (versão 2.0) conforme figura demonstrada abaixo. Como procedimento padrão, a esteira foi calibrada em gás ambiente antes da colocação de cada animal. Na semana de início dos testes, a esteira foi calibrada de acordo com cilindro de gases de 04.92% CO<sub>2</sub> e 16.00% O<sub>2</sub> a fim de verificar que o analisador estava funcionando perfeitamente.

**Figura 7.** Esteira metabólica



**Figura 7.** Na imagem, podemos observar o circuito fechado e a esteira metabólica, conectado ao analisador de gases e o cilindro de oxigênio que foi utilizado durante os dias de calibração.

**Figura 8.** Software AQCAD



**Figura 8.** Software AQCAD, que possibilita a visualização das alterações de diferentes marcadores durante o período de teste.  $\dot{V}O_2$ - volume de oxigênio.  $\dot{V}CO_2$  - volume de gás carbônico. RER- razão de troca respiratória. fluxo é a medida que não sofre variação durante todo o teste, com valor padronizado a 1200mL/min. Figura. Software AQCAD

Além do acompanhamento feito dos gases, foi possível acompanhar o progresso de velocidade na esteira. O software permitia a parada da esteira, controle do ventilador e choque.

**Figura 9.** Software esteira



**Figura 9.** Software esteira. Software que permite monitorar a velocidade pré-progamada, de acordo com o protocolo selecionado. Nesta área, é possível ligar e desligar o choque, cronometrar o tempo e desligar a esteira durante a corrida.

#### 4.6 TEMPERATURA RETAL

Os animais foram retirados da esteira imediatamente ao final do teste e transportados em uma caixa até a bancada. Na bancada, com a ajuda de uma flanela, o camundongo foi contido e o cauda suspensa para introduzir o termômetro retal com vaselina.

#### 4.7 COLETA DE SANGUE: LACTATO

O sangue foi coletado da artéria mandibular de 10 animais dos grupos exercício, em tubos com fluoreto de sódio e EDTA (anticoagulante). Ao finalizar a coleta de sangue de cada animal, o tubo foi levado imediatamente ao centro de análises da clínica veterinária Bioanálises Vet (Araranguá/ SC). Os tubos foram centrifugados e o plasma separados para

análise bioquímica, método quimiluminescência automatizada, realizado pelo laboratório. Após a coleta, os animais foram eutanasiados.

#### 4.8 FORÇA DE PREENSÃO

O testes de força de preensão, foi realizado após 4 horas da administração do LPS, com metade dos animais (não realizaram o teste incremental máximo). A avaliação da força muscular é uma etapa essencial para observarmos a fadiga anaeróbio nos animais. Com isso, realizamos o teste de preensão do membro anterior com medidor de força de preensão Bonther® 5 kgf (Bonther, Ribeirão Preto, SP, Brasil) (DE LUCA et al., 2008; TAKESHITA et al., 2017). Os animais foram suspensos pela cauda até o aparato triangular, para segurar com as patas anteriores, em seguida o pesquisador puxa suavemente o animal pela cauda até perder o controle da barra de metal. Enquanto isso, um pedal é acionado gerando um gráfico com tempo de preensão, pico de força e queda da força. Foram 4 tentativas com disparo de 10 segundos e intervalo de 1 minuto entre elas. A média das 3 melhores tentativas foram utilizadas para as análises.

**Figura 10.** Grip strengt test.



**Figura 10.** Aparato de avaliação de força dos animais. Capaz de analisar tempo de preensão, pico de força e queda da força. O triângulo é o suporte onde os animais realizam a preensão, sendo disparado o sinal para captação de força ao apertar um pedal

## 4.9 ANÁLISE DE DADOS

As análises estatísticas foram feitas de acordo com o princípio da intenção de tratar pelo software STATISTICA (sistema de software de análise de dados) versão 13.5.0.17 (StatSoft, Inc.). As variáveis passaram por uma análise descritiva, teste de normalidade, seguido pela inferência estatística, sendo utilizado a ANOVA de medidas repetidas, ANOVA de duas vias ou teste t student. As análises estatísticas foram designadas de acordo com a amostra, quantidade de grupos e finalidade do teste, para interpretar e analisar os dados. Os gráficos foram construídos no software GraphPad Prism versão 8.0 para Windows (GraphPad Software, EUA). A ANOVA de medidas repetidas foi aplicada para analisar a progressão do  $\dot{V}O_2$ , seguido por test post hoc de Bonferroni. Para avaliar o massa corporal,  $\dot{V}O_{2max}$ , potência, RER, temperatura, força relativa, tempo de prensão e AUC, foi utilizado ANOVA de duas vias e post hoc de Newman-Keuls. O Teste t Student foi aplicado para análise do ácido láctico. O eta-quadrado parcial de Cohen  $\eta^2$ , tamanho de efeito, foi calculado para mudanças entre grupos, onde um  $\eta^2$  de Cohen foi definido como 0,01 pequeno, 0,09 médio, e 0,25 grande. Os dados apresentados como média  $\pm$  SEM. As diferenças significativas foram consideradas quando  $p < 0,05$ .

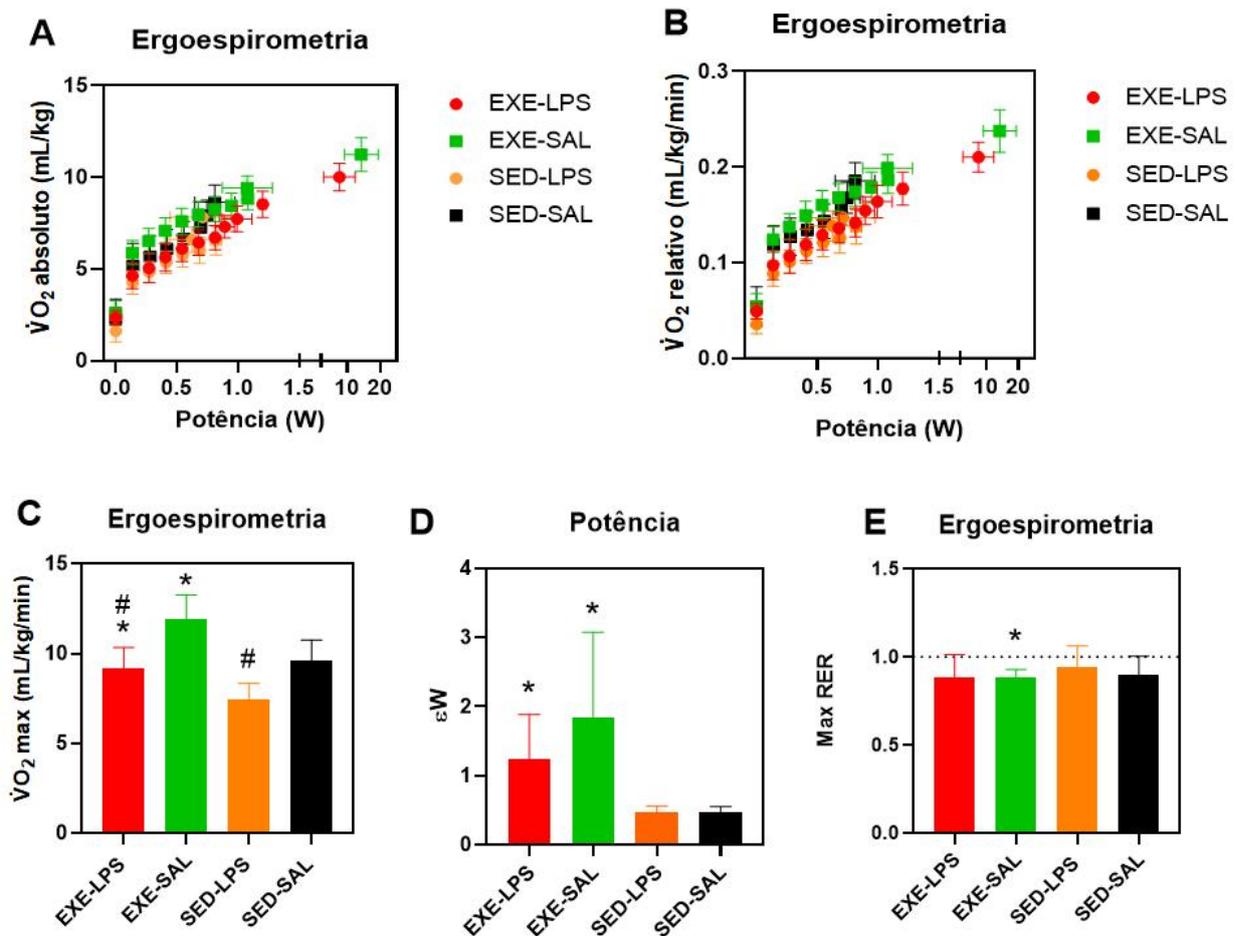
## 5. RESULTADOS

### 5.1 O exercício físico atenua o declínio do $\dot{V}O_2$ e da potência aeróbica de camundongos tratados com LPS.

Em comparação com a linha de base, observou-se um aumento progressivo do  $\dot{V}O_2$  absoluto dos animais conforme a progressão do exercício ergoespirométrico ( $F_{6,150}=236$ ,  $n^2=0,9$ ,  $\beta=1,0$ ,  $p < 0,05$ , Fig. 12,A), como adaptação aguda durante a corrida prolongada com aumento de intensidade. Entretanto, a cinética de oxigênio foi prejudicada pelo tratamento de LPS ( $F_{6,150}=2,66$ ,  $n^2=0,09$ ,  $\beta=0,85$ ,  $p < 0,05$ , Fig. 12,A). Os resultados do  $\dot{V}O_2$  relativo, indicam diferenças estatisticamente significativas nas medições de  $\dot{V}O_2$  subsequente em cada estágio no grupo exercício ( $F_{6,162}=248$ ,  $n^2=0,9$ ,  $\beta=1,0$ ,  $p < 0,05$ , Fig. 12,B) e não indicam prejuízos do  $\dot{V}O_2$  relativo com a administração de LPS ( $F_{6,162}=2,09$ ,  $p=0,05$ , Fig. 12,B). Sugerindo adaptações fisiológicas nos índices de fadiga aeróbica com o treinamento de 6 semanas.

Os grupos LPS tiveram um prejuízo significativo no  $\dot{V}O_2\text{max}$  ( $F_{1,27}=8,45$ ,  $n^2=0,23$ ,  $\beta=0,80$ ,  $p<0,05$ , Fig. 12, C). No entanto, o  $\dot{V}O_2\text{max}$  dos animais treinados foi superior aos animais sedentários ( $F_{1,27}=5,57$ ,  $n^2=0,17$ ,  $\beta=0,62$ ,  $p<0,05$ , Fig. 12,C). Na potência, a administração do LPS nos animais, não levou a prejuízos significantes ( $F_{1,27}=2,83$ ,  $p=0,10$ , Fig. 1,D). Já nos grupos exercício, a potência aumentou significativamente em relação aos animais sedentários ( $F_{1,27}=16,83$ ,  $n^2=0,38$ ,  $\beta=0,97$ ,  $p<0,05$ , Fig. 1,D). O gráfico 1.E, mostra que somente os grupos salina não alcançaram o RER 1,0 ( $F_{1,27}=0$ ,  $p=0,9$ , Fig. 12, E). No entanto, não houve significância estatística para a variável entre os grupos exercício ( $F_{1,27}=0,27$ ,  $p=0,6$ , Fig. 12, E)

Figura 12

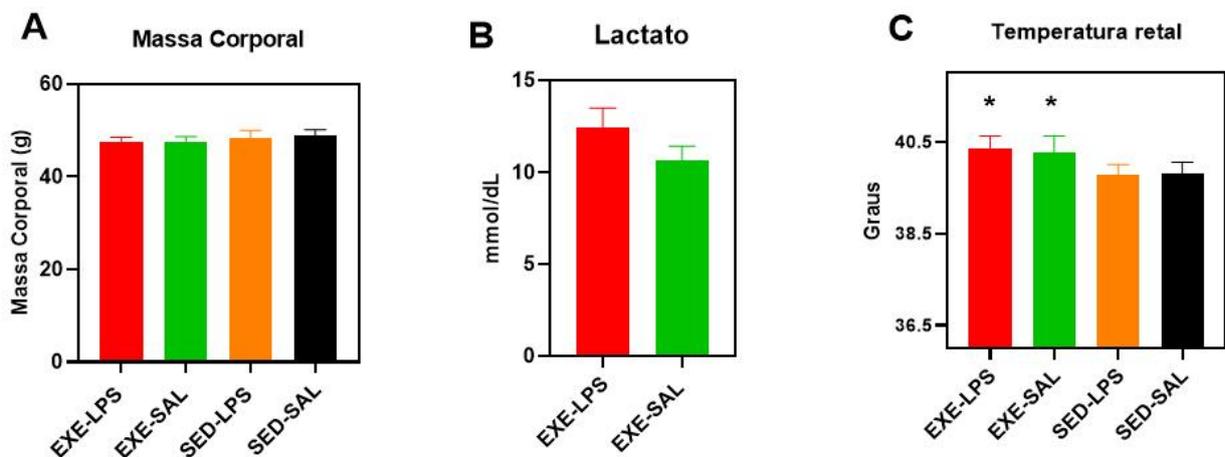


**Figura 12.** Efeitos do exercício na capacidade aeróbica de animais inflamados com LPS (0.33mg/kg i.p). No gráfico, podemos observar o as variáveis do teste ergométrico. O LPS levou a um prejuízo do  $\dot{V}O_2$  absoluto (A) e do  $\dot{V}O_2\text{max}$  (C). O animais dos grupos exercício tiveram um aumento do  $\dot{V}O_2$  absoluto (A) e apresentaram

um maior  $\dot{V}O_2\text{max}$ . A Potência (D) entre os animais inflamados não foi significativa.. Já nos grupos treinados, os animais apresentaram uma maior potência (D). o grupo EXE-SAL foi o único que não atingiu o RER max (E). Os dados são descritos como média  $\pm$  SEM. N =7-8 animais/grupo para 5 experimentos independentes. (ANOVA bidirecional seguida de teste post hoc de Newman-Keuls, Fig. C-E / ANOVA de medidas repetidas foi aplicada para analisar a progressão do  $\dot{V}O_2$ , seguido por test post hoc de benferroni, Fig. A-B). EXE-exercício. SED- sedentário. LPS- lipopolissacarídeo. SAL-salina. *RER* taxa de troca respiratória. *VO2* consumo de oxigênio. \**P* < 0,05 vs SED. # *p*<0,05 vs SAL.

A massa corporal não diferiu entre os grupos ( $F_{1,27}=0,09$ ,  $p=07$ , Fig. 13-A), sendo um fator importante, visto que sua diferença pode interferir na potência durante a corrida. O ácido láctico, também não apresentou diferenças estatísticas entre os grupos ( $t_5=1,23$ , Fig. 13-B). Entretanto, a temperatura retal foi maior nos grupos exercícios quando comparado aos animais sedentários ( $F_{1,27}=6,6$ ,  $n^2=0,19$ ,  $\beta=0,69$ ,  $p<0,05$ , Fig.13-B).

**Figura 13**

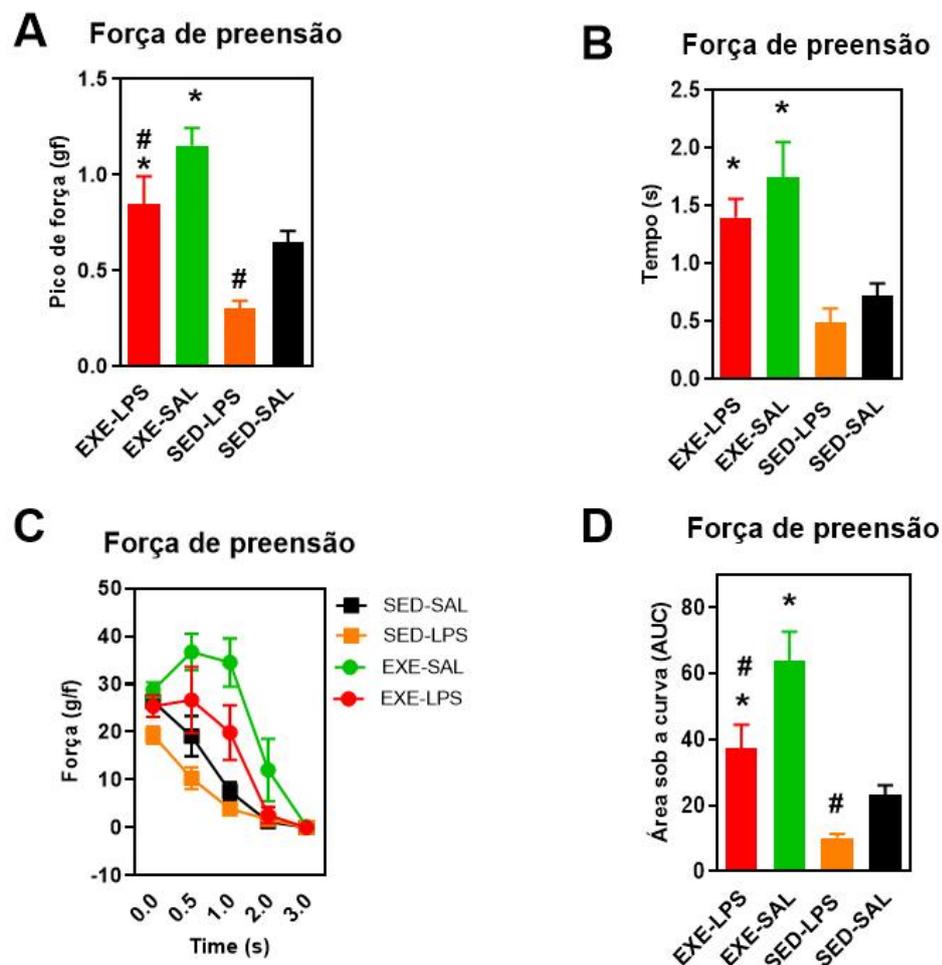


**Figura 13.** Efeito do exercício e do LPS na massa corporal, nos níveis de ácido láctico e na temperatura reta . A diferença de massa corporal não diferiu entre os grupos (A), assim como o lactato não atingiu significância estatística (B). A temperatura foi maior no grupo exercício quando comparado aos animais sedentários (C). Os dados são descritos como média  $\pm$  SEM. N =7-8 animais/grupo para 5 experimentos independentes. ANOVA de duas vias e post hoc de Newman-Keuls (A, C). Test t (B). EXE-exercício. SED- sedentário. LPS- lipopolissacarídeo. SAL-salina. \**P* < 0,05 vs SED.

## 5.2 Exercício atenua perda de força de preensão causada pelo tratamento LPS em camundongos

O LPS mostrou prejuízo de desempenho da força muscular dos animais, pela diminuição do pico de força relativo dos camundongos ( $F_{1,18}=10,51$ ,  $n^2=0,36$ ,  $\beta=0,86$ ,  $p < 0,05$ , Fig. 14-A). Entretanto, de acordo com a nossa hipótese da influência do exercício prévio nos índices de desempenho anaeróbico, o exercício aumentou a força muscular dos animais treinados, visto pelo aumento do pico de força relativo ( $F_{1,18}=27,06$ ,  $n^2=0,60$ ,  $\beta=0,99$ ,  $p < 0,05$ , Fig. 14-A) e um maior tempo de pegada ( $F_{1,18}=22,43$ ,  $n^2=0,55$ ,  $\beta=0,99$ ,  $p < 0,05$ , Fig. 14-B), sugerindo uma diminuição da fadiga anaeróbica. No tempo de preensão, os animais LPS não tiveram diferença estatisticamente significativas ( $F_{1,18}=2,04$ ,  $p=0,77$ , Fig. 14-B).

**Figura 14**



**Figura 14.** Efeito do exercício de 6 semanas na força de animais inflamados com LPS (0.33mg/kg i.p). Diferença dos grupos no testes de preensão. Pico de força relativo (A), tempo de preensão (B), tempo versus força (C) e área sobre a curva (D). O LPS levou a um prejuízo de desempenho dos animais no teste (A, C). Os

animais exercício tiveram uma maior força, visto pelo pico de força relativo (A) e um a maior resistência no tempo de prensão (B). O exercício também foi benéfico para tempo vs força (C-D). Os dados são descritos como média  $\pm$  SEM. N =7-8 animais/grupo para 5 experimentos independentes. ANOVA de duas vias e post hoc de Newman-Keuls. EXE-exercício. SED- sedentário. LPS- lipopolissacarídeo. SAL-salina. \* $P < 0,05$  vs SED. #  $p < 0,05$  vs SAL.

No tempo vs força, podemos observar pela área sob a curva (AUC) que os animais EXE-LPS e EXE-SAL tiveram um melhor desempenho ( $F_{1,18}=26,40$ ,  $n^2=0,59$ ,  $\beta=0,99$ ,  $p < 0,05$  Fig. 14-D) e o LPS levou a um prejuízo na aptidão física dos animais tratados com LPS ( $F_{1,18}=8,99$ ,  $n^2=0,33$ ,  $\beta=0,80$ ,  $p < 0,05$  Fig. 14-D).

## 6. DISCUSSÃO

### 6.1 O exercício físico atenua o declínio do $\dot{V}O_2$ e da potência aeróbica de camundongos tratados com LPS.

Como esperado, foi observado um grande aumento da captação de oxigênio no teste ergométrico até o  $\dot{V}O_2$  max, com prejuízo médio nos animais tratados com LPS. O exercício físico regular, tende a aumentar o  $\dot{V}O_2$ max e a economia de trabalho. O  $\dot{V}O_2$  é um componente essencial para análise da fadiga aeróbica e o LPS manifesta alterações que desencadeiam a fadiga. De acordo com nossos resultados, Lambert & Noakes (1990), apresentaram resultados onde a prática de atividade física voluntária de 8 semanas, levou a um aumento do desempenho de 52% em animais treinados, quando comparados ao controle, e de 18 % quando comparados a camundongos de baixo desempenho, ambos apresentaram um  $\dot{V}O_2$ max maior do que o grupo controle (LAMBERT & NOAKES, 1990). O exercício prolongado de 16 semanas em roda de corrida, em animais saudáveis, mostra um maior tempo até a exaustão e um  $\dot{V}O_2$  pico maior, produzindo efeito mensurável ao treinamento aeróbico (DAVIDSON; BURNETT; HOFFMAN, 2006). No entanto, não havia evidência na literatura que demonstre a fadiga aeróbica em animais tratados com LPS E.Coli.

Os animais sedentários tratados com LPS, obtiveram prejuízo na cinética do  $\dot{V}O_2$  e no  $\dot{V}O_2$  max. Nossos resultados, mostram uma diminuição de desempenho nos animais SED-LPS, compactuam com estudos da literatura, onde mostram evidências que o LPS leva a níveis elevados de citocinas pró-inflamatórias (IL-6,IL-1 $\beta$ ) inclusive a nível de SNC, que pode afetar áreas como córtex frontal frontal e hipocampo, levando a prejuízos da aptidão física e de aprendizado, devido a ativação reativa da micróglia. A literatura mostra evidências de que exercícios agudos costumam gerar um aumento da atividade inflamatória, mas exercícios de forma regular, geram uma diminuição na produção de citocinas pró-inflamatória IL-1 $\beta$ , IL-18 e TNF- $\alpha$ , sendo as principais citocinas pró-inflamatórias do SNC (WANG et al., 2016; ZHANG et al., 2019). Zhang e colaboradores (2019), demonstraram que o exercício de 12 semanas em esteira, é capaz de reduzir significamente os níveis IL-1 $\beta$  e IL-18 na neuroinflamação mediada pela micróglia no hipocampo. No entanto, este achado parece ser modificado de acordo com a idade, sugerindo que as citocinas pró-inflamatórias (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ou IL-10) não reduzem com exercício físico prévio em camundongos idosos (MARTIN et al., 2013).

Em contraste ao desempenho dos animais SED-LPS, os animais do grupo EXE-LPS, obtiveram aumento significativo no  $\dot{V}O_2$  na potência. Na literatura, temos evidências robustas que o exercício aeróbico diminui significativamente os infiltrados inflamatórios e a lesão pulmonar (WANG; WANG; TANG, 2021). O exercício regular, gera uma tolerância e diminuição dos receptores TLR4 na superfície celular, suprimindo a sinalização devido a expressão regular de fatores que interagem com o receptor, levando a uma tolerância à eles e de forma cruzada, ao LPS (BEG, 2002; FLYNN et al., 2003; DE VICENTE, et al., 2020). Além disso, o exercício regular atua na diminuição do LPS sanguíneo, através da ação de um mecanismo protetor via microbiota-intestino-cérebro, pela modificação da microbiota intestinal (YUAN et al., 2022). Em apoio aos benefícios do exercício, a nível central, estudos mostram que o exercício físico regular, pode aumentar a neuroplasticidade, através da regulação positiva da via de BDNF, com aumento da sua expressão, promovendo uma maior resistência dos neurônios ao dano e facilitando a transmissão sináptica durante o exercício físico (COTMAN & BERCHTOLD, 2002; NAY et al., 2021).

Shi et al., 2020, demonstrou que camundongos BALB C, que realizaram exercício aeróbico prévio de 5 semanas, após inflamação induzida por LPS (100  $\mu$ l ip), mostraram que o exercício atenuou os efeitos pró-inflamatórios, como redução de neutrófilos, macrófagos e espécies reativas de oxigênio. Além disso, o exercício regular de 8 semanas, 1h/dia durante 5 dias na semana, mostrou que o exercício físico é capaz de suprimir a via de sinalização por TLR4 a nível periférico e de reduzir as concentrações séricas de LPS (OLIVEIRA et al., 2011). Yuan e colaboradores (2022) demonstraram, que a nível central, o exercício físico suprime a neuroinflamação através da redução da ativação de células gliais em camundongos jovens pela via TLR4/MyD88. Wu e colaboradores (2007), mostraram que o exercício em esteira (incremental) de 5 semanas promove a neurogênese no hipocampo, em animais submetidos a administração repetida de LPS. Aguiar et al., 2014, mostrou que o exercício melhora na atividade mitocondrial e a neuroplasticidade, interferindo de forma positiva na neurotransmissão de monoaminas.

O exercício aeróbico melhora do  $\dot{V}O_2$  ao promover estresse cardiovascular através de alterações hemodinâmicas, como aumento do débito cardíaco e crescimento de 12 a 15% do crescimento cardíacocardíaco para suprir as demandas, podendo levar a um aumento como um todo (VEGA et al., 2017). Em modelo animal, o aumento de cardiomiócitos pode ser identificado após 1 mês de exercício físico (WANG et al., 2010). O  $\dot{V}O_2$  está ligado também ao número de mitocôndrias e capilares, podendo variar de acordo espécies, nível de atividade

física e composição corporal (WEIBAL et al., 2004). Além disso, o exercício físico aeróbico de forma regular, promove uma melhora na capacidade respiratória, além de ter uma forte correlação genética (LIGHTFOOT et al., 2001; LERMAN et al., 2002). O exercício físico proporciona alterações importantes no metabolismo mitocondrial e consequente melhora bioenergética, através do aumento da motilidade, mitofagia e da biogênese, melhorando a qualidade e a quantidade das mitocôndrias, além de adaptações de ROS, óxido nítrico e  $Ca^{+}$  (PANCHAL; TIWARI, 2019; ZHANG; GAO, 2021).

Nossos resultados não demonstraram efeitos significativos nos níveis sanguíneos de ácido láctico, nosso N da amostra foi pequeno a tivemos perdas durante a coleta de sangue. Outro fator importante, é que não coletamos amostra dos animais sedentários, o que gera dificuldade na interpretação dos resultados. Fisiologicamente, com o aumento da intensidade do exercício, temos a produção de lactato em sinal da hipóxia tecidual e lesão muscular, mostrando um declínio da força e potência. Zhang et al., 2016, mostrou que não houve diferenças significativas nos níveis de ácido láctico entre sedentários e exercício, salina ou LPS, em exercício de natação, mesmo com diminuição de desempenho ocasionado pelo LPS. O lactato é um parâmetro determinante da intensidade do exercício físico. Bobinski et al., 2011, em programa de corrida de baixa intensidade com camundongos Swiss, com concentração de lactato em repouso a  $2,49 \pm 0,12$  mmol/L, mostrou aumento da concentração de lactato com o aumento da velocidade. Ao final, os animais correram a uma velocidade de 18m/min durante 30 minutos, que resultou em uma concentração sanguínea final de  $7,02 \pm 0,87$  mmol/L. Outro estudo realizado com camundongos saudáveis, não treinados, mostrou uma concentração de 2mmol/L durante os primeiros 75 min, que ao progredir a intensidade do exercício de 27m/min para 33m/min, resultou para o aumento de 6 mmol/L (SHI et al., 2019).

Nossos resultados mostraram, que a temperatura retal dos animais treinados, foi superior aos dos animais sedentários. O comprometimento imunológico com LPS pode provocar um aumento ou diminuição da temperatura de acordo com a espécie, linhagem e dose. Em dose semelhante a utilizada em nosso estudo, administração de 50, 150 e 300  $\mu$ g/kg, o LPS levou a hipotermia após quatro horas de administração em camundongos suíços (TOYAMA et al., 2015). No entanto, durante o exercício físico, temos um aumento da temperatura corporal, uma resposta fisiológica esperada devido a uma sobrecarga metabólica (MCARDLE et al., 2019). Nos animais sedentários, não observamos uma diferença quanto a temperatura retal, isso porque a temperatura corporal durante o exercício pode variar de acordo com a hidratação, intensidade do exercício e estado fisiológico/físico, que podem ser

alteradas por condições patológicas e até mesmo condições de estresse. A temperatura do ambiente também pode influenciar (RUDAYA, et al., 2005). Wanner e colaboradores (2014), mostraram que a corrida em ambiente de 34°C, pode aumentar 1,2°C na temperatura central de camundongos submetidos a teste incremental máximo em esteira em relação a um ambiente de 24 °C .

## **6.2 Exercício atenua perda de força de preensão causada pelo tratamento LPS em camundongos**

No teste de força, os animais treinados obtiveram um melhor desempenho no pico de força relativo, tempo de preensão e tempo *vs* força. Já os animais SED-LPS, apresentaram menor pico de força e um pior desempenho em tempo *vs* força. Isso mostra, que o exercício de corrida voluntária durante 6 semanas, pode ter proporcionado um aumento na força dos animais exercício, melhora esta, não vista nos animais sedentários. Apesar do exercício aeróbico gerar sobrecargas específicas para o tipo de treinamento realizado, no caso a corrida, ele tem a capacidade de proporcionar melhorias como sobrecarga dos músculos utilizados para a atividade (MCARDLE et al., 2019). Segundo Kemi et al., 2002, o exercício de corrida 2 horas/dia, 5 dias/semana em uma intensidade de  $\dot{V}O_2$ max de 85-90%, leva a um aumento de 12-18% da massa esquelética dos músculos extensores dos dedos e sóleo (KEMI et al., 2002). Zhao e colaboradores (2020a), demonstram que animais treinados mantêm a força muscular ao longo do tempo, enquanto nos animais sedentários, a força de preensão diminui monotonicamente. Apoiando nossos resultados, um estudo com camundongos que realizaram corrida voluntária por um período de 12 semanas e com baixa resistência, mostram melhora da função contrátil e redução da fadigabilidade, quando comparados aos sedentários (BALTGALVIS et al., 2012).

Os animais LPS, demonstraram um prejuízo no pico de força e no tempo *vs* força, quando comparado aos animais SAL. Estudos mostram, que a via TLR4, medeia o catabolismo muscular (DOYLE et al., 2011; ZHANG et al., 2021). Utilizando miotubos, a administração de LPS (100 ng/ml), mostrou uma regulação positiva de autofagossoma após 2 horas, que resultou em atrofia do miotubo ao atingir o pico em 8 horas de administração (DOYLE et al., 2011). Além disso, Goodman em 1991, demonstrou que a administração de LPS 200 µg/kg e o fator de necrose tumoral, em ratos, é capaz de aumentar a proteólise muscular após 8 horas (GOODMAN, 1991). Em camundongos, foi identificado que as miofibras são relevantes produtoras de citocinas inflamatórias locais, evidenciando um

aumento de Il-6 no músculo gastrocnêmio, quando comparado aos nocautes TLR4, após 3 horas de administração intravenosa de LPS (1,5 µg/kg) (BIVONA et al., 2022).

## 7. CONCLUSÕES, LIMITAÇÕES E PERSPECTIVAS

Nossos resultados, indicam um efeito protetor do exercício prévio na fadiga aeróbica e anaeróbica em animais inflamados com LPS E. Coli. Nossos resultados, mostraram que o exercício prévio de 6 semanas promoveu aumento do  $\dot{V}O_2$ , potência e aumento da força muscular. Estes resultados, sugerem potenciais alterações fisiológicas e físicas do exercício prévio, contra o mecanismo pró- inflamatório induzido por LPS e consequentemente, contra o desenvolvimento de doenças que possuem a fadiga como fator limitante. No entanto, melhorias podem ser feitas.

Em futuras investigações, uma análise bioquímica detalhada poderia revelar insights sobre o efeito antiinflamatório do exercício físico, especialmente pela quantificação de biomarcadores inflamatórios, como as citocinas, entre diferentes grupos. Adicionalmente, poderia-se realizar uma análise ampliada do lactato para superar as limitações impostas por uma amostra anteriormente restrita. Complementando os achados relacionados aos benefícios do exercício aeróbico na redução da fadiga anaeróbica, um exame histológico poderia enriquecer os resultados observados, evidenciando um aumento de força nos animais submetidos ao treinamento.

O estudo atual apresenta como limitação a generalização dos resultados sobre o impacto do exercício prévio de seis semanas na fadiga aeróbica e anaeróbica, em virtude do modelo de inflamação sistêmica utilizado. Para superar essa limitação, pesquisas futuras poderiam focar em doenças específicas e seus mecanismos patológicos subjacentes, como a encefalomielite autoimune, doença de Parkinson, Alzheimer, depressão e fibromialgia. Essa abordagem permitiria uma análise mais direcionada, considerando que a intensidade, duração e frequência dos exercícios podem necessitar de ajustes conforme as particularidades da população estudada e suas condições individuais.

## REFERÊNCIAS

ABDELBASSET, W. K. et al. Effects of high-intensity interval and moderate-intensity continuous aerobic exercise on diabetic obese patients with nonalcoholic fatty liver disease: a comparative randomized controlled trial. **Medicine**, v. 99, n. 10, 2020.

ABDEL-SALAM, O. M. E et al. Modulation of lipopolysaccharide-induced oxidative stress by capsaicin. **Inflammopharmacology**, v. 20, p. 207-217, 2012.

AGUIAR JR, A. S. et al. Physical exercise improves motor and short-term social memory deficits in reserpinized rats. **Brain research bulletin**, v. 79, n. 6, p. 452-457, 2009.

AGUIAR JR, A. S. et al. Neuronal adenosine A2A receptors signal ergogenic effects of caffeine. **Scientific reports**, v. 10, n. 1, p. 13414, 2020.

AGUIAR A. S et al. The exercise sex gap and the impact of the estrous cycle on exercise performance in mice. **8(1):10742**, 2018.

AGUIAR JR, A. S. et al. Deletion of CD73 increases exercise power in mice. **Purinergic Signalling**, v. 17, n. 3, p. 393-397, 2021.

AGUIAR JR, A. S. et al. Exercise attenuates levodopa-induced dyskinesia in 6-hydroxydopamine-lesioned mice. **Neuroscience**, v. 243, p. 46-53, 2013.

AGUIAR JR, A. S. et al. Effects of exercise on mitochondrial function, neuroplasticity and anxio-depressive behavior of mice. **Neuroscience**, v. 271, p. 56-63, 2014.

ALVES, A. C. B. et al. Role of adenosine A2A receptors in the central fatigue of neurodegenerative diseases. **Journal of Caffeine and Adenosine Research**, v. 9, n. 4, p. 145-156, 2019.

ANDRÄ, J. et al. Interactions between lipid A and serum proteins. **Lipid A in Cancer Therapy**, p. 39-51, 2010.

ÅKERSTEDT, T. et al. Mental fatigue, work and sleep. **Journal of psychosomatic Research**, v. 57, n. 5, p. 427-433, 2004.

BADSHAH, H. et al. Caffeine may abrogate LPS-induced oxidative stress and neuroinflammation by regulating Nrf2/TLR4 in adult mouse brains. **Biomolecules**, v. 9, n. 11, p. 719, 2019.

BALDELLI, V. et al. The role of Enterobacteriaceae in gut microbiota dysbiosis in inflammatory bowel diseases. **Microorganisms**, v. 9, n. 4, p. 697, 2021.

BALTGALVIS, K. A. et al. Exercise training improves plantarflexor muscle function in mdx mice. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 44, n. 9, p. 1671, 2012

BANG, S. et al. Activation of GPR37 in macrophages confers protection against infection-induced sepsis and pain-like behaviour in mice. **Nature communications**, v. 12, n. 1, p. 1704, 2021.

BEG, A. A. Endogenous ligands of Toll-like receptors: implications for regulating inflammatory and immune responses. **Trends in immunology**, v. 23, n. 11, p. 509-512, 2002.

BERGER, G. & MCINMAN, A. Exercício e qualidade de vida. **Manual de pesquisa em psicologia do esporte**, p. 729-760, 1993.

BERNARDES, D. et al. Differential brain and spinal cord cytokine and BDNF levels in experimental autoimmune encephalomyelitis are modulated by prior and regular exercise. **Journal of neuroimmunology**, v. 264, n. 1-2, p. 24-34, 2013

BINDER, E. et al. Regular voluntary exercise reduces anxiety-related behaviour and impulsiveness in mice. **Behavioural brain research**, v. 155, n. 2, p. 197-206, 2004.

BIVONA III, J. J. et al. Skeletal muscle myofibers directly contribute to LPS-induced systemic inflammatory tone. **Frontiers in Pharmacology**, v. 13, p. 917917, 2022.

BOBINSKI, F. et al. Neuroprotective and neuroregenerative effects of low-intensity aerobic exercise on sciatic nerve crush injury in mice. **Neuroscience**, v. 194, p. 337-348, 2011.

BOSQUET, Laurent; LÉGER, Luc; LEGROS, Patrick. Methods to determine aerobic endurance. *Sports medicine*, v. 32, p. 675-700, 2002.

BOYAS, S; GUÉVEL, A. Neuromuscular fatigue in healthy muscle: underlying factors and adaptation mechanisms. *Annals of physical and rehabilitation medicine*, v. 54, n. 2, p. 88-108, 2011.

BROWN, C. D.; WISE, R. A. Field tests of exercise in COPD: the six-minute walk test and the shuttle walk test. *COPD: Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*, v. 4, n. 3, p. 217-223, 2007.

BROOKS, G. A. Lactate as a fulcrum of metabolism. *Redox biology*, v. 35, p. 101454, 2020.  
CAMPOS, M. C. et al. Post-viral fatigue in COVID-19: A review of symptom assessment methods, mental, cognitive, and physical impairment. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, v. 142, p. 104902, 2022.

CAIRNS, S P. Lactic acid and exercise performance: culprit or friend?. *Sports medicine*, v. 36, p. 279-291, 2006.

CARDOSO, G. H et al. High-intensity exercise prevents disturbances in lung inflammatory cytokines and antioxidant defenses induced by lipopolysaccharide. *Inflammation*, v. 41, p. 2060-2067, 2018.

CARANDINI, T. et al. The distinct roles of monoamines in multiple sclerosis: A bridge between the immune and nervous systems?. *Brain, Behavior, and Immunity*, v. 94, p. 381-391, 2021.

CLAGHORN, G. C. et al. A cafeína estimula a roda voluntária em camundongos sem aumentar a capacidade aeróbica. *Fisiologia e comportamento*, v. 170, p. 133-140, 2017

CLERMONT, O. et al. The Clermont Escherichia coli phylo-typing method revisited: improvement of specificity and detection of new phylo-groups. *Environmental microbiology reports*, v. 5, n. 1, p. 58-65, 2013.

CHAUDHURI, A; BEHAN, P. O. Fatigue and basal ganglia. *Journal of the neurological sciences*, v. 179, n. 1-2, p. 34-42, 2000.

CHAUDHURI, A; BEHAN, P. O. Fatigue in neurological disorders. *The lancet*, v. 363, n. 9413, p. 978-988, 2004.

CHAUDHURI, R.R.; HENDERSON, I. R. The evolution of the Escherichia coli phylogeny. *Infection, Genetics and Evolution*, v. 12, n. 2, p. 214-226, 2012.

COOLS, R; ARNSTEN, A. FT. Neuromodulation of prefrontal cortex cognitive function in primates: the powerful roles of monoamines and acetylcholine. **Neuropsychopharmacology**, v. 47, n. 1, p. 309-328, 2022.

COTMAN, C. W.; BERCHTOLD, N. C. Exercise: a behavioral intervention to enhance brain health and plasticity. **Trends in neurosciences**, v. 25, n. 6, p. 295-301, 2002.

CROXSON, P. L.; KYRIAZIS, D. A.; BAXTER, M. G. Cholinergic modulation of a specific memory function of prefrontal cortex. **Nature neuroscience**, v. 14, n. 12, p. 1510-1512, 2011.

DA LUZ SCHEFFER, D. et al. Moderate running exercise prevents excessive immune system activation. **Physiology & behavior**, v. 204, p. 248-255, 2019.

DANTZER, R. Cytokine-induced sickness behavior: where do we stand?. **Brain, behavior, and immunity**, v. 15, n. 1, p. 7-24, 2001.

DAVIDSON, S. R.; BURNETT, M; HOFFMAN-GOETZ, L. Training effects in mice after long-term voluntary exercise. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 38, n. 2, p. 250-255, 2006.

DAVIS, J. M. et al. Central nervous system effects of caffeine and adenosine on fatigue. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, 2003.

DAVIES, K; DURES, E; NG, W. Fatigue in inflammatory rheumatic diseases: current knowledge and areas for future research. **Nature Reviews Rheumatology**, v. 17, n. 11, p. 651-664, 2021.

DE BEM ALVES, A. C. et al. Exercise attenuates sickness behavior and protects against dopaminergic impairment induced by neuroinflammation. **bioRxiv**, p. 2021.02. 05.429925, 2021.

DE LUCA, J. et al. Neural correlates of cognitive fatigue in multiple sclerosis using functional MRI. **Journal of the neurological sciences**, v. 270, n. 1-2, p. 28-39, 2008.

DEMITRACK, M. A. et al. Plasma and cerebrospinal fluid monoamine metabolism in patients with chronic fatigue syndrome: preliminary findings. **Biological psychiatry**, v. 32, n. 12, p. 1065-1077, 1992.

DE VICENTE, L. G. et al. Role of TLR4 in physical exercise and cardiovascular diseases. **Cytokine**, v. 136, p. 155273, 2020.

DING, Z.; DU, L. Swimming exercise ameliorates depressive-like behavior by anti-inflammation activity, rebalancing gut Escherichia coli and Lactobacilli. **Brain Research**, v. 1797, p. 148113, 2022.

DITTNER, A. J.; WESSELY, S. C.; BROWN, R. G. The assessment of fatigue: a practical guide for clinicians and researchers. **Journal of psychosomatic research**, v. 56, n. 2, p. 157-170, 2004.

DOYLE, A. et al. Toll-like receptor 4 mediates lipopolysaccharide-induced muscle catabolism via coordinate activation of ubiquitin-proteasome and autophagy-lysosome pathways. **The FASEB Journal**, v. 25, n. 1, p. 99, 2011.

DOUGHERTY, J. P. et al. Evaluation of the effects of chemotherapy-induced fatigue and pharmacological interventions in multiple mouse behavioral assays. **Behavioural brain research**, v. 360, p. 255-261, 2019.

DRASAR, B. S. et al. **Human intestinal flora**. Academic Press (London) Ltd., 24/28 Oval Road, London, NW1, 1974.

DRIVER, H. S. ; TAYLOR, S. R. Exercise and sleep. **Sleep medicine reviews**, v. 4, n. 4, p. 387-402, 2000.

EGAN, B; HAWLEY, J. A.; ZIERATH, J. R. SnapShot: exercise metabolism. **Cell Metabolism**, v. 24, n. 2, p. 342-342. e1, 2016.

ESCHERICH, T. The intestinal bacteria of the neonate and breast-fed infant. **Clinical Infectious Diseases**, v. 10, n. 6, p. 1220-1225, 1988.

FERREIRA, J. C. B et al. Maximal lactate steady state in running mice: effect of exercise training. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 34, n. 8, p. 760-765, 2007.

FLYNN, M. G. et al. Toll-like receptor 4 and CD14 mRNA expression are lower in resistive exercise-trained elderly women. **Journal of applied physiology**, v. 95, n. 5, p. 1833-1842, 2003.

FRANK-CANNON, T. C. et al. Does neuroinflammation fan the flame in neurodegenerative diseases?. **Molecular neurodegeneration**, v. 4, p. 1-13, 2009.

FOSTER, C. G. et al. Differences in fatigue-like behavior in the lipopolysaccharide and poly I: C inflammatory animal models. **Physiology & behavior**, v. 232, p. 113347, 2021.

FUKUDA, K. et al. The chronic fatigue syndrome: a comprehensive approach to its definition and study. *Annals of internal medicine*, v. 121, n. 12, p. 953-959, 1994.

GOLDE, W. T.; GOLLOBIN, P; RODRIGUEZ, L. L. A rapid, simple, and humane method for submandibular bleeding of mice using a lancet. **Lab animal**, v.34, n. 9, p. 39-43, 2005.

GODBOUT, J. P. et al. Exaggerated neuroinflammation and sickness behavior in aged mice after activation of the peripheral innate immune system. **The FASEB journal**, v. 19, n. 10, p. 1329-1331, 2005.

GOEDECKE, J. H. et al. Determinants of the variability in respiratory exchange ratio at rest and during exercise in trained athletes. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 279, n. 6, p. E1325-E1334, 2000.

GOODMAN, M. N. Tumor necrosis factor induces skeletal muscle protein breakdown in rats. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 260, n. 5, p. E727-E730, 1991.

GOUVEIA, K.; HURST, J. L. Improving the practicality of using non-aversive handling methods to reduce background stress and anxiety in laboratory mice. **Scientific reports**, v. 9, n. 1, p. 20305, 2019.

GRAHAM, TE; SPRIET, LL Respostas metabólicas, catecolaminas e de desempenho do exercício a várias doses de cafeína. **Revista de fisiologia aplicada** , v. 78, n. 3, pág. 867-874, 1995.

GREEN, S. et al. Effects of exercise training and sex on dynamic responses of O<sub>2</sub> uptake in type 2 diabetes. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, v. 45, n. 8, p. 865-874, 2020.

HANISCH, U. & KETTENMANN, H. Microglia: active sensor and versatile effector cells in the normal and pathologic brain. *Nature neuroscience*, v. 10, n. 11, p. 1387-1394, 2007.

HARGREAVES, M. & SPRIET, L. L. Skeletal muscle energy metabolism during exercise. *Nature metabolism*, v. 2, n. 9, p. 817-828, 2020.

HEINE, H.; RIETSCHEL, E. Th; ULMER, A. J. The biology of endotoxin. *Molecular biotechnology*, v. 19, p. 279-296, 2001.

HENRY, C. J. et al. Minocycline attenuates lipopolysaccharide (LPS)-induced neuroinflammation, sickness behavior, and anhedonia. *Journal of neuroinflammation*, v. 5, n. 1, p. 1-14, 2008.

HENRY, C. J. et al. Peripheral lipopolysaccharide (LPS) challenge promotes microglial hyperactivity in aged mice that is associated with exaggerated induction of both pro-inflammatory IL-1 $\beta$  and anti-inflammatory IL-10 cytokines. *Brain, behavior, and immunity*, v. 23, n. 3, p. 309-317, 2009.

HOOGLAND, I. C. M et al. Systemic inflammation and microglial activation: systematic review of animal experiments. *Journal of neuroinflammation*, v. 12, p. 1-13, 2015.

HUANG, C. et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *The Lancet*, 2020.

HULTMAN, E.; SPRIET, L. L.; SÖDERLUND, K. Biochemistry of muscle fatigue. *Biomedica biochimica acta*, v. 45, n. 1-2, p. S97-106, 1986.

IMOTO, M. et al. Total synthesis of Escherichia coli lipid A, the endotoxically active principle of cell-surface lipopolysaccharide. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, v. 60, n. 6, p. 2205-2214, 1987.

JOHNSON, J. R.; RUSSO, T. A. Extraintestinal pathogenic Escherichia coli: "the other bad E coli". *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, v. 139, n. 3, p. 155-162, 2002.

KAWAHARA, K. Variation, modification and engineering of lipid A in endotoxin of Gram-negative bacteria. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 22, n. 5, p. 2281, 2021.

KAPER, J. B.; NATARO, J. P.; MOBLEY, H. L.T. Pathogenic escherichia coli. **Nature reviews microbiology**, v. 2, n. 2, p. 123-140, 2004.

KEMI, O. J et al. Intensity-controlled treadmill running in mice: cardiac and skeletal muscle hypertrophy. **Journal of applied physiology**, v. 93, n. 4, p. 1301-1309, 2002.

KIM, T. & SUNG, Y. Regular exercise promotes memory function and enhances hippocampal neuroplasticity in experimental autoimmune encephalomyelitis mice. **Neuroscience**, v. 346, p. 173-181, 2017.

KUMAR, M. et al. Increased intestinal permeability exacerbates sepsis through reduced hepatic SCD-1 activity and dysregulated iron recycling. **Nature communications**, v. 11, n. 1, p. 483, 2020.

LAM, M. H. et al. Mental morbidities and chronic fatigue in severe acute respiratory syndrome survivors: long-term follow-up. *Archives of internal medicine*, v. 169, n. 22, p. 2142-2147, 2009.

LAMBERT, M. I.; NOAKES, T. D. Spontaneous running increases VO<sub>2</sub>max and running performance in rats. **Journal of Applied Physiology**, v. 68, n. 1, p. 400-403, 1990.

LERMAN, I. et al. Genetic variability in forced and voluntary endurance exercise performance in seven inbred mouse strains. **Journal of applied physiology**, v. 92, n. 6, p. 2245-2255, 2002.

LIANG, L. et al. L-lactate inhibits lipopolysaccharide-induced inflammation of microglia in the hippocampus. **International Journal of Neuroscience**, p. 1-8, 2022.

LIGHTFOOT, J. T. et al. Interstrain variation in murine aerobic capacity. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 33, n. 12, p. 2053-2057, 2001.

LIU, Y; FISKUM, G; SCHUBERT, D. Generation of reactive oxygen species by the mitochondrial electron transport chain. **Journal of neurochemistry**, v. 80, n. 5, p. 780-787, 2002.

LIU, Z. et al. Liquiritin, a novel inhibitor of TRPV1 and TRPA1, protects against LPS-induced acute lung injury. *Cell calcium*, v. 88, p. 102198, 2020.

LÖLLGEN, H; LEYK, D. Exercise testing in sports medicine. *Deutsches Ärzteblatt International*, v. 115, n. 24, p. 409, 2018.

LUAN, X. et al. Exercise as a prescription for patients with various diseases. **Journal of sport and health science**, v. 8, n. 5, p. 422-441, 2019.

LÜDERITZ, O. T. T. O. et al. Isolation and chemical and immunological characterization of bacterial lipopolysaccharides. **Microbial toxins**, v. 4, p. 145-233, 1971.

LÜDERITZ, O.; GALANOS, C.; RIETSCHER, E. T. Endotoxins of gram-negative bacteria. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 15, n. 3, p. 383-402, 1981.

MACHADO, F. R. L.; DE SOUZA CORRÊA, K.; RABAHI, M. F. Efeitos do exercício físico combinado na dispnéia, capacidade funcional e qualidade de vida de pacientes com DPOC em uma clínica privada. **Assobrafir Ciência**, v. 2, n. 2, p. 19-28, 2019

MAGNASCO, L. et al. Spread of carbapenem-resistant Gram-negatives and *Candida auris* during the COVID-19 pandemic in critically ill patients: one step back in antimicrobial stewardship?. **Microorganisms**, v. 9, n. 1, p. 95, 2021.

MARTIN, S. A. et al. Effects of voluntary wheel running on LPS-induced sickness behavior in aged mice. **Brain, behavior, and immunity**, v. 29, p. 113-123, 2013.

MARTIN, K. et al. Mental fatigue impairs endurance performance: a physiological explanation. **Sports medicine**, v. 48, p. 2041-2051, 2018.

MARTINSEN, E. W. Benefits of exercise for the treatment of depression. **Sports medicine**, v. 9, p. 380-389, 1990.

MAZGAEEN, L. & GURUNG, P. Recent advances in lipopolysaccharide recognition systems. **International journal of molecular sciences**, v. 21, n. 2, p. 379, 2020.

MAZZARIOL, A.; BAZAJ, A.; CORNAGLIA, G. Multi-drug-resistant Gram-negative bacteria causing urinary tract infections: a review. **Journal of Chemotherapy**, v. 29, n. sup1, p. 2-9, 2017.

MCARDLE, W. D. Fisiologia do exercício : nutrição, energia e desempenho humano. 8 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2019.

MELKONIAN, E. A.; SCHURY, M. P. Biochemistry, anaerobic glycolysis. 2019.

MESEGUER, V. et al. TRPA1 channels mediate acute neurogenic inflammation and pain produced by bacterial endotoxins. **Nature communications**, v. 5, n. 1, p. 3125, 2014.

Ministério da Saúde. BRASIL. Secretaria de Atenção Primária à Saúde. Departamento de Promoção da Saúde. **Guia de Atividade Física para a População Brasileira [recurso eletrônico]** / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção Primária à Saúde, Departamento de Promoção da Saúde. – Brasília : Ministério da Saúde, 2021.

MORITZ, C. E. J. et al. Altered extracellular ATP, ADP, and AMP hydrolysis in blood serum of sedentary individuals after an acute, aerobic, moderate exercise session. **Molecular and cellular biochemistry**, v. 426, p. 55-63, 2017.

MUSCELLA, A.; STEFANO, E.; MARSIGLIANTE, S. The effects of exercise training on lipid metabolism and coronary heart disease. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 319, n. 1, p. H76-H88, 2020.

NATARO, J. P.; KAPER, J. B. Diarrheogenic escherichia coli. **Clinical microbiology reviews**, v. 11, n. 1, p. 142-201, 1998.

NAY, K. et al. Molecular mechanisms underlying the beneficial effects of exercise on brain function and neurological disorders. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 8, p. 4052, 2021.

NUCCI, A; ROCHA, E. P.C. ; RENDUELES, O. Adaptation to novel spatially-structured environments is driven by the capsule and alters virulence-associated traits. **Nature Communications**, v. 13, n. 1, p. 4751, 2022.

OLIVEIRA, A. G. et al. Physical exercise reduces circulating lipopolysaccharide and TLR4 activation and improves insulin signaling in tissues of DIO rats. **Diabetes**, v. 60, n. 3, p. 784-796, 2011.

ONGINI, E. et al. Selective adenosine A2A receptor antagonists. **Il Farmaco**, v. 56, n. 1-2, p. 87-90, 2001.

PANCHAL, K & TIWARI, A. K. Mitochondrial dynamics, a key executioner in neurodegenerative diseases. **Mitochondrion**, v. 47, p. 151-173, 2019.

PARK, B. S. et al. The structural basis of lipopolysaccharide recognition by the TLR4–MD-2 complex. **Nature**, v. 458, n. 7242, p. 1191-1195, 2009.

PINHO, R. A.; AGUIAR JR, A. S.; RADÁK, Z. Effects of resistance exercise on cerebral redox regulation and cognition: an interplay between muscle and brain. **Antioxidants**, v. 8, n. 11, p. 529, 2019.

PENNER, I. ; PAUL, F. Fatigue as a symptom or comorbidity of neurological diseases. **Nature Reviews Neurology**, v. 13, n. 11, p. 662-675, 2017.

PÉREZ-HERNÁNDEZ, E. G. et al. New insights into lipopolysaccharide inactivation mechanisms in sepsis. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 141, p. 111890, 2021.

QI, P. et al. Neural mechanisms of mental fatigue revisited: New insights from the brain connectome. **Engineering**, v. 5, n. 2, p. 276-286, 2019.

RAHIMIFARD, M. et al. Targeting the TLR4 signaling pathway by polyphenols: a novel therapeutic strategy for neuroinflammation. **Ageing research reviews**, v. 36, p. 11-19, 2017.

RIZZO, F. R. et al. Exercise protects from hippocampal inflammation and neurodegeneration in experimental autoimmune encephalomyelitis. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 98, p. 13-27, 2021.

RUDAYA, A. Y. et al. Thermoregulatory responses to lipopolysaccharide in the mouse: dependence on the dose and ambient temperature. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 289, n. 5, p. R1244-R1252, 2005.

SALMANI, H. et al. Exacerbated immune response of the brain to peripheral immune challenge in post-septic mice. **Brain Research Bulletin**, v. 185, p. 74-85, 2022.

SENS, J. et al. Lipopolysaccharide administration induces sex-dependent behavioural and serotonergic neurochemical signatures in mice. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 153, p. 168-181, 2017.

SENSINI, F. et al. The impact of handling technique and handling frequency on laboratory mouse welfare is sex-specific. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 17281, 2020

SHI, Y. et al. Lactic acid accumulation during exhaustive exercise impairs release of neutrophil extracellular traps in mice. **Frontiers in Physiology**, v. 10, p. 709, 2019.

SHI, Y. et al. Aerobic exercise attenuates acute lung injury through NET inhibition. **Frontiers in Immunology**, v. 11, p. 409, 2020.

SHIMAZU, R. et al. MD-2, a molecule that confers lipopolysaccharide responsiveness on Toll-like receptor 4. **The Journal of experimental medicine**, v. 189, n. 11, p. 1777-1782, 1999.

SIMPSON, B.W.; TRENT, M. Stephen. Pushing the envelope: LPS modifications and their consequences. **Nature Reviews Microbiology**, v. 17, n. 7, p. 403-416, 2019.

SKELLY, D. T. et al. Acute transient cognitive dysfunction and acute brain injury induced by systemic inflammation occur by dissociable IL-1-dependent mechanisms. **Molecular psychiatry**, v. 24, n. 10, p. 1533-1548, 2019.

SOUZA, P. S. et al. Physical exercise attenuates experimental autoimmune encephalomyelitis by inhibiting peripheral immune response and blood-brain barrier disruption. **Molecular neurobiology**, v. 54, p. 4723-4737, 2017.

STRAWBRIDGE, R. et al. Inflammatory proteins are altered in chronic fatigue syndrome—a systematic review and meta-analysis. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 107, p. 69-83, 2019.

SUNDBERG, C. W.; FITTS, R. H. Bioenergetic basis of skeletal muscle fatigue. **Current opinion in physiology**, v. 10, p. 118-127, 2019.

TAKESHITA, H. et al. Modified forelimb grip strength test detects aging-associated physiological decline in skeletal muscle function in male mice. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 1-9, 2017.

TAN, Y. & KAGAN, J. C. A cross-disciplinary perspective on the innate immune responses to bacterial lipopolysaccharide. **Molecular cell**, v. 54, n. 2, p. 212-223, 2014.

TOYAMA, R. P. et al. Dose-dependent sickness behavior, abortion and inflammation induced by systemic LPS injection in pregnant mice. **The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine**, v. 28, n. 4, p. 426-430, 2015.

TSAI, W. et al. Long-Term voluntary physical exercise exerts neuroprotective effects and motor disturbance alleviation in a rat model of Parkinson's disease. **Behavioural Neurology**, v. 2019, 2019.

TSENG, V. W. et al. Digital biomarker of mental fatigue. **NPJ digital medicine**, v. 4, n. 1, p. 47, 2021.

VALLES, A. et al. A single lipopolysaccharide administration is sufficient to induce a long-term desensitization of the hypothalamic–pituitary–adrenal axis. **Neuroscience**, v. 112, n. 2, p. 383-389, 2002.

VEGA, R. B. et al. Molecular mechanisms underlying cardiac adaptation to exercise. **Cell metabolism**, v. 25, n. 5, p. 1012-1026, 2017.

VOLTARELLI, F. A.; GOBATTO, C. A.; DE MELLO, M. A. R. Determination of anaerobic threshold in rats using the lactate minimum test. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, v. 35, p. 1389-1394, 2002.

WANG, Y; WISLOFF, U; KEMI, O. J. Animal models in the study of exercise-induced cardiac hypertrophy. **Physiological research**, v. 59, n. 5, p. 633, 2010.

WANG, Y et al. Exercise amelioration of depression-like behavior in OVX mice is associated with suppression of NLRP3 inflammasome activation in hippocampus. **Behavioural brain research**, v. 307, p. 18-24, 2016.

WANG, Z. et al. TRPV4-induced inflammatory response is involved in neuronal death in pilocarpine model of temporal lobe epilepsy in mice. **Cell death & disease**, v. 10, n. 6, p. 386, 2019.

WANG, X; WANG, Z; TANG, D. Aerobic exercise improves LPS-induced sepsis via regulating the Warburg effect in mice. **Scientific reports**, v. 11, n. 1, p. 17772, 2021.

WANNER, S. P. et al. Physical exercise-induced changes in the core body temperature of mice depend more on ambient temperature than on exercise protocol or intensity. **International journal of biometeorology**, v. 58, p. 1077-1085, 2014.

WEIBEL, E. R. et al. Allometric scaling of maximal metabolic rate in mammals: muscle aerobic capacity as determinant factor. **Respiratory physiology & neurobiology**, v. 140, n. 2, p. 115-132, 2004.

WILLARD, B.; HAUSS-WEGRZYNIAK, B.; WENK, G. L. Pathological and biochemical consequences of acute and chronic neuroinflammation within the basal forebrain cholinergic system of rats. **Neuroscience**, v. 88, n. 1, p. 193-200, 1999.

WU, C. et al. Treadmill exercise counteracts the suppressive effects of peripheral lipopolysaccharide on hippocampal neurogenesis and learning and memory. **Journal of neurochemistry**, v. 103, n. 6, p. 2471-2481, 2007.

XIAO, K. et al. Beneficial effects of running exercise on hippocampal microglia and neuroinflammation in chronic unpredictable stress-induced depression model rats. **Translational psychiatry**, v. 11, n. 1, p. 461, 2021.

YAMAMOTO, M. et al. Role of adaptor TRIF in the MyD88-independent toll-like receptor signaling pathway. **Science**, v. 301, n. 5633, p. 640-643, 2003.

YUAN, S. et al. Treadmill exercise modulates intestinal microbes and suppresses LPS displacement to alleviate neuroinflammation in the brains of APP/PS1 mice. **Nutrients**, v. 14, n. 19, p. 4134, 2022.

ZHANG, G. et al. Toll-like receptor 4 mediates Lewis lung carcinoma-induced muscle wasting via coordinate activation of protein degradation pathways. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 2273, 2017.

ZHANG, X. et al. Treadmill exercise decreases A $\beta$  deposition and counteracts cognitive decline in APP/PS1 mice, possibly via hippocampal microglia modifications. **Frontiers in Aging Neuroscience**, v. 11, p. 78, 2019.

ZHANG, X & GAO, F. Exercise improves vascular health: Role of mitochondria. Free Radical **Biology and Medicine**, v. 177, p. 347-359, 2021.

ZHAO, W. et al. Elamipretide (SS-31) improves mitochondrial dysfunction, synaptic and memory impairment induced by lipopolysaccharide in mice. **Journal of Neuroinflammation**, v. 16, p. 1-19, 2019.

ZHAO, Y. et al. Lifelong treadmill training improves muscle function detected by a modified grip strength test during aging in BALB/c mice. **Life sciences**, v. 251, p. 117603, 2020a.

ZHAO, Z. et al. A novel role of NLRP3-generated IL-1 $\beta$  in the acute-chronic transition of peripheral lipopolysaccharide-elicited neuroinflammation: implications for sepsis-associated neurodegeneration. **Journal of Neuroinflammation**, v. 17, n. 1, p. 1-19, 2020.