

Kássya Regina de Oliveira

**Efeito de diferentes estratégias de aclimação ao calor sobre as respostas termorregulatórias e o desempenho aeróbico de ratos submetidos a uma sessão de exercício em ambiente quente até a fadiga**

**Belo Horizonte**

**2018**

Kássya Regina de Oliveira

Efeito de diferentes estratégias de aclimação ao calor sobre as respostas termorregulatórias e o desempenho aeróbico de ratos submetidos a uma sessão de exercício em ambiente quente até a fadiga

Dissertação de mestrado apresentada ao curso de mestrado em Ciências do Esporte da Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Ciências do Esporte.

Orientador: Prof. Dr. Samuel Penna Wanner

Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional/ UFMG

Belo Horizonte

2018

## AGRADECIMENTOS

A Deus, o início meio e fim de tudo, sempre presente.

À meus pais Elvis e Lara, e a minha irmã Ana Clara que sempre estiveram “on-line” e conectados nos piores e melhores momentos, vocês são parte dessa conquista!

À população brasileira que financiou os meus estudos desde a pré-escola até o mestrado, e por intermédio da Coordenação de Pessoal de Nível Superior (CAPES), do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) forneceram suporte financeiro para a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Samuel Penna Wanner pela confiança, motivação e preocupação diária com o nosso trabalho e minha formação para a pesquisa científica, me lembrando que também sou um ser humano. Por pacientemente desfazer minhas dúvidas, me dar autonomia e orientação ao longo da especialização e do mestrado. Seu exemplo como professor, pesquisador e colega, me incentiva a buscar a excelência.

Aos colegas do Laboratório de Fisiologia do Exercício – LAFISE por todas as explicações e debates fisiológicos, estatísticos, conceituais entre outros, regados a cafés, *dingles* e descontração; vocês tornaram essa rotina de pesquisa muito mais divertida e motivante. A Myla Bittencourt, que em um curto período compartilhou muito sobre a caminhada científica, formação pessoal e profissional, você também é ‘Lafisiana’.

Aos amigos que incentivaram essa caminhada obrigada!

## RESUMO

**Introdução:** Seres humanos são animais homeotérmicos que se adaptam termicamente quando expostos passiva e cronicamente ao ambiente quente ou quando realizam exercício aeróbico crônico no ambiente temperado ou quente. Essas adaptações reduzem o estresse termorregulatório imposto por um exercício em ambiente quente. No entanto, ainda não se investigou os efeitos dessas diferentes estratégias de aclimação ao calor em ratos, que representam um modelo experimental bastante utilizado no estudo das vias metabólicas e centrais envolvidas nessas adaptações. **Objetivo:** Comparar os efeitos de diferentes estratégias de aclimação ao calor sobre as respostas termorregulatórias e o desempenho aeróbico de ratos submetidos a uma sessão de exercício em ambiente quente. **Métodos:** Os ratos foram distribuídos em quatro grupos: dois correram em esteira rolante, sendo um grupo no ambiente temperado (24°C; E24) e outro no calor (31°C, E31); e dois grupos que repousaram nos mesmos ambientes (R24; R31). Cada intervenção consistiu de 10 sessões (grupos E, corrida a 60% da velocidade máxima durante 40 - 48 min; grupos R, 2 min corrida a 60% da velocidade máxima, seguidos de 38 - 46 min de repouso). Antes e após as dez sessões, os ratos de todos os grupos foram submetidos ao exercício progressivo no calor (31°C), quando foram realizadas as medidas de desempenho aeróbico e das temperaturas corporal interna ( $T_{INT}$ ) e da pele da cauda ( $T_{PELE}$ ). **Resultados:** O tempo total de exercício, a distância percorrida e a  $\Delta T_{INT}$  foram maiores, enquanto a razão  $\Delta T_{INT} / \text{km}$  foi menor nos grupos E em relação aos grupos R. Estes parâmetros não sofreram influência da temperatura ambiente na qual as intervenções foram realizadas. A  $T_{PELE}$  não foi diferente entre grupos após as 10 sessões de intervenção, indicando que os protocolos de aclimação não modificaram a dissipação cutânea de calor. **Conclusão:** Independente da temperatura ambiente em que foram realizados, os protocolos de aclimação ao calor envolvendo exercício foram mais eficientes em reduzir estresse térmico e aumentar o desempenho aeróbico durante exercício progressivo até a fadiga no calor.

**Palavras-chave:** Aclimação. Calor. Desempenho aeróbico.

## ABSTRACT

**Introduction:** Humans are homoeothermic animals that exhibit thermal adaptations when exposed passively or chronically to environmental heat, or when they perform chronic aerobic exercise in the heat or in temperate environments. These adaptations reduce thermoregulatory strain imposed by exercise in the heat. However, the effects of these different heat acclimatization strategies in rats, which represent an experimental model widely used in the study of the metabolic and central pathways involved in these adaptations, have not been investigated yet. **Aim:** To compare the effects of different heat acclimatization strategies on thermoregulatory responses and aerobic performance of rats subjected to a single bout of exercise in the heat. **Methods:** The rats were divided into four groups: two groups ran on a treadmill, one in the temperate environment (24°C, E24) and the other one in the heat (31°C, E31); and two groups that rested in the same environments (R24; R31). Each intervention consisted of 10 sessions (E groups, running at 60% of maximal speed for 40-48 min, R groups, 2 min running at 60% of maximal speed, followed by 38-46 min at rest). Before and after the 10 sessions, all the groups were subjected to a progressive exercise in the heat (31°C), when the aerobic performance and core body temperature ( $T_{CORE}$ ) and tail-skin temperature ( $T_{SKIN}$ ) were measured. **Results:** Time to fatigue, running distance and  $\Delta T_{INT}$  were higher, while  $\Delta T_{CORE}$ -to-km ratio was lower in E groups relative to R groups. These parameters were not influenced by the ambient temperature in which the interventions were performed.  $T_{SKIN}$  was not different between groups after the 10 intervention sessions, indicating that the acclimation protocols did not modify cutaneous heat dissipation. **Conclusion:** Regardless of the ambient temperature in which the interventions were performed, heat acclimation protocols involving exercise were more efficient in reducing thermal stress and increasing aerobic performance during a progressive exercise until fatigue in the heat.

**Key words:** Heat acclimation. Heat adaptation. Aerobic training.

O48e Oliveira, Kássya Regina de  
2018 Efeito de diferentes estratégias de aclimação ao calor sobre as respostas termorregulatórias e o desempenho aeróbico de ratos submetidos a uma sessão de exercício em ambiente quente até a fadiga. / [manuscrito]. Kássya Regina De Oliveira – 2018.  
58 f., enc.:il.

Orientador: Samuel Penna Wanner

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional.

Bibliografia: f. 52-58

1. Exercícios físicos – Aspectos fisiológicos - Teses. 2. Temperatura – Efeitos fisiológicos – Teses. 3. Calor – Teses. 4. Regulação Corporal - Teses. 5. Fadiga - Teses. I. Wanner, Samuel Penna. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional. III. Título.

CDU: 612:796

Ficha catalográfica elaborada pelo bibliotecário Danilo Francisco de Souza Lage, CRB 6: n° 3132, da Biblioteca da Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional da UFMG.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Percentual de adaptação ao calor ao longo dos dias de aclimatação por meio da realização de exercício em ambiente quente em humanos (adaptado de PÉRIARD; RACINAIS; SAWKA, 2015).....	7
<b>Figura 2</b> - Linha do tempo do delineamento experimental.....	14
<b>Figura 3</b> - Distribuição do n amostral nos quatro grupos experimentais.....	14
<b>Figura 4</b> - Razão $\Delta$ TINT por quilômetro percorrido ( $\Delta$ °C / km) em cada sessão de intervenção (1 <sup>a</sup> a 10 <sup>a</sup> ) de ratos para os grupos exercitados.....	18
<b>Figura 5</b> - Temperatura da pele de ratos durante a primeira sessão de intervenção. ....	28
<b>Figura 6</b> - Temperatura da pele de ratos durante a primeira sessão de intervenção. ....	29
<b>Figura 7</b> - Temperatura interna de ratos durante a última sessão de intervenção.....	33
<b>Figura 8</b> - Temperatura da pele de ratos durante a última sessão de intervenção..	34
<b>Figura 9</b> - Temperatura interna de ratos submetidos ao exercício progressivo a 31 °C pós-intervenção.....	36
<b>Figura 10</b> - Temperatura da pele de ratos submetidos ao exercício progressivo a 31 °C após as intervenções.....	37
<b>Figura 11</b> - Diferença entre os momentos pré- e pós-intervenções no TTE medido durante exercícios progressivos a 31 °C até a fadiga. ....	38
<b>Figura 12</b> - Diferença entre os momentos pré- e pós-intervenções na temperatura interna medida no início do exercício progressivo a 31 °C até a fadiga..	39
<b>Figura 13</b> - Diferença entre os momentos pré- e pós-intervenções na temperatura da pele medida no início do exercício progressivo a 31 °C até a fadiga. ....	40

- Figura 14** - Diferença entre os momentos pré- e pós-intervenções na temperatura interna atingida na fadiga durante o exercício progressivo a 31 °C.. .....41
- Figura 15** - Diferença entre os momentos pré- e pós-intervenção na temperatura da pele atingida na fadiga durante o exercício progressivo a 31 °C.....42
- Figura 16** - Diferença entre os momentos pré- e pós-intervenções na variação da temperatura interna ( $\Delta^{\circ}\text{C}$ ) durante o exercício progressivo a 31 °C até a fadiga. ....43
- Figura 17** - Diferença entre os momentos pré- e pós-intervenções na variação da temperatura da pele ( $\Delta^{\circ}\text{C}$ ) durante o exercício progressivo a 31 °C até a fadiga.....44
- Figura 18** - Diferença entre os momentos pré- e pós-intervenções na razão  $\Delta T_{\text{INT}} / \text{km}$  durante o exercício progressivo a 31 °C até a fadiga. ....45



## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Adaptações fisiológicas associadas ao fenótipo de aclimação ao calor..7	
<b>Tabela 2</b> - Protocolo de familiarização à corrida em esteira rolante com duração de cinco dias .....	13
<b>Tabela 3</b> - Atividades que os grupos mantidos em repouso (R 31 e R 24) realizaram no período correspondente à aclimação ao calor dos grupos exercitados (E 31 e E 24).....	15
<b>Tabela 4</b> - Duração e intensidade das 10 sessões de aclimação nos grupos exercitados .....	16
<b>Tabela 5</b> - Variáveis de controle, variáveis fisiológicas e desempenho aeróbico dos ratos durante o exercício progressivo a 24 °C realizado antes das intervenções .....	23
<b>Tabela 6</b> - Variáveis de controle, variáveis fisiológicas e desempenho aeróbico dos ratos durante exercício progressivo a 31 °C antes das intervenções.....	25
<b>Tabela 7</b> - Variáveis fisiológicas e de controle durante a primeira sessão de aclimação .....	27
<b>Tabela 8</b> - Variáveis fisiológicas e de controle durante a décima sessão de aclimação .....	31
<b>Tabela 9</b> - Variáveis de controle de ratos submetidos ao exercício progressivo a 31 °C após as intervenções.....	35

## LISTA DE ABREVIATURAS

**ANOVA** - Análise de variância

**CAPES** - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

**E 24** - Grupo exercício em ambiente temperado

**E 31** - Grupo exercício em ambiente quente

**HSPs** - Proteínas de choque térmico

**IC** - Intervalo de confiança da média

**m** - Massa do rato (g)

**n** - Número de ratos por grupo amostral

**PAM** – Pressão arterial média

**R 24** - Grupo repouso em ambiente temperado

**R 31** - Grupo repouso em ambiente quente

**T<sub>AMB</sub>** - Temperatura ambiente

**T<sub>INT</sub>** - Temperatura corporal interna

**T<sub>PELE</sub>** - Temperatura da pele da cauda

**TTE** - Tempo total de exercício

**UFMG** - Universidade Federal de Minas Gerais

**URA** – Umidade relativa do ar

**$\Delta T_{INT}$**  - variação da temperatura interna (T final – T inicial)

# SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>1.1 Exposição passiva ao calor</b> .....	3
<b>1.2 Treinamento aeróbico</b> .....	3
<b>1.3 Exercício no calor</b> .....	4
<b>1.4 Respostas fisiológicas decorrentes da aclimação ao calor</b> .....	6
<b>1.5 Objetivo geral</b> .....	9
<b>1.6 Objetivos específicos</b> .....	9
<b>1.7 Hipóteses</b> .....	10
<b>2 MÉTODOS</b> .....	11
<b>2.1 Cuidados éticos</b> .....	11
<b>2.2 Cálculo do tamanho amostral</b> .....	11
<b>2.3 Animais</b> .....	12
<b>2.4 Familiarização</b> .....	12
<b>2.5 Exercício progressivo</b> .....	13
<b>2.6 Grupos experimentais</b> .....	14
<b>2.7 Exercício crônico em diferentes temperaturas ambiente</b> .....	15
2.7.1 Controle das condições ambientais .....	18
<b>2.8 Eutanásia</b> .....	19
<b>2.9 Variáveis medidas</b> .....	19
<b>2.10 Variáveis calculadas</b> .....	20
<b>2.11 Análise estatística</b> .....	21
<b>3 RESULTADOS</b> .....	22
<b>3.1 Progressivo a 24 °C</b> .....	22
3.1.1 Variáveis de controle, variáveis fisiológicas e de desempenho aeróbico de ratos submetidos ao exercício progressivo .....	22

<b>3.2 Progressivos a 31 °C pré-intervenção</b> .....	24
3.2.1 Variáveis controles, variáveis fisiológicas e de desempenho aeróbico de ratos submetidos ao exercício progressivo .....	24
<b>3.3 Primeira sessão de aclimação</b> .....	26
3.3.1 Variáveis de controle e fisiológicas .....	26
3.3.2 Curvas de cinética das temperaturas corporais durante a 1ª sessão de aclimação .....	28
<b>3.4 Décima sessão de aclimação</b> .....	30
3.4.1 Variáveis de controle e fisiológicas .....	30
3.4.2 Curvas de cinética das temperaturas corporais durante a 10ª sessão de aclimação .....	32
<b>3.5 Progressivo a 31 °C pós-intervenção</b> .....	34
3.5.1 Variáveis de controle durante o exercício progressivo pós-intervenção .....	34
3.5.2 Curvas de cinética das temperaturas corporais durante o exercício progressivo pós-intervenção.....	35
3.5.3 Tempo total de exercício .....	37
3.5.4 Temperatura interna inicial (°C) .....	38
3.5.5 Temperatura da pele inicial (°C) .....	39
3.5.6 Temperatura interna na fadiga (°C) .....	40
3.5.7 Temperatura da pele na fadiga (°C) .....	41
3.5.8 Variação da temperatura interna ( $\Delta$ °C) .....	42
3.5.9 Variação da temperatura da pele ( $\Delta$ °C) .....	43
3.5.10 Razão variação da temperatura interna a cada quilômetro percorrido.....	44
<b>4 DISCUSSÃO</b> .....	46
<b>5 CONCLUSÃO</b> .....	51
<b>6 REFERÊNCIAS</b> .....	52

# 1 INTRODUÇÃO

Ratos e humanos são mamíferos endotérmicos e homeotérmicos, pois são capazes de produzir energia térmica (calor) a partir do metabolismo corporal e de manter a temperatura corporal interna ( $T_{INT}$ ) dentro de limites estreitos de variação ( $37 \pm 1$  °C), mesmo frente a ambientes termicamente diversos (IUPS THERMAL COMMISSION, 2001; CHEUVRONT, HAYMES, 2001). Este controle preciso da  $T_{INT}$  ocorre por meio de ajustes na produção e dissipação de calor corporal, mediados pelo recrutamento ou inibição de mecanismos autonômicos e comportamentais (TAYLOR, 2014; TOKIZAWA; LIN; NAGASHIMA, 2012). Poucas situações fazem com que a  $T_{INT}$  de animais homeotérmicos oscile para valores além desses limites estreitos de variação; por exemplo, quando são submetidos ao exercício físico intenso ou expostos a temperaturas ambientes elevadas, situações que podem gerar estresse térmico não compensável, no qual ratos e humanos não conseguem equilibrar as taxas de dissipação e de produção de calor, exibindo aumento acentuado e contínuo da  $T_{INT}$  (GORDON, 2012; WANNER *et al.*, 2015). A exposição a temperaturas ambientais elevadas durante a realização de atividades físicas que exigem um determinado desempenho são exemplos dessas situações e são comuns para atletas que competem em climas quentes (KELLY *et al.*, 2016; SUNDERLAND; MORRIS; NEVILL, 2008), para algumas profissões que envolvem trabalho braçal (e.g.: caldeiras, canais; YAMAZAKI, 2013) e para bombeiros (BARR; REILLY; GREGSON, 2011; CHEUNG; PETERSEN; MCLELLAN, 2010) e militares em missão (NELSON *et al.*, 2011). Outra exigência comum a todas essas profissões é a necessidade da manutenção do desempenho durante a exposição às altas temperaturas ambientais e uma maior tolerância à carga térmica que estes ambientes representam, prevenindo assim a possível ocorrência de lesões causadas pelo calor (CARTER *et al.*, 2005; ACSM, 2007).

Durante a realização de exercício agudo no calor, ocorre o aumento do débito cardíaco e redistribuição do fluxo sanguíneo para a superfície corporal e para os músculos ativos, de modo a promover a perda de calor através da pele e atender a demanda muscular por nutrientes e oxigênio (JOHNSON, 2010). Esta redistribuição do fluxo sanguíneo somente é possível em função da vasoconstrição visceral e renal (TAYLOR, 2014). Além disso, são ativados os mecanismos de perda

de calor evaporativa, que incluem a evaporação de suor (em humanos), de saliva (em ratos) e de água a partir do trato respiratório (em ambas as espécies); e os mecanismos de perda não evaporativa, como a vasodilatação da cauda nos ratos (GORDON, 2012). À medida que a duração do exercício no calor aumenta, o estresse térmico que inicialmente era compensável devido à perda de calor pelos mecanismos evaporativos e não evaporativos pode se tornar um estresse não compensável, pois a produção de calor superaria a capacidade de dissipação de calor para o ambiente, mesmo quando os termoefetores estão ativados (MCLLENAN, TENAGLIA, 2001). Com o prolongamento do exercício, o calor metabólico é transferido para o sangue e a soma da produção metabólica induzida pelas contrações musculares com o ganho de calor ambiental promove aumentos da  $T_{INT}$  (PÈRIARD; CAILLAUD; THOMPSON, 2012; GONZALEZ-ALONSO *et al.*, 1999) e da percepção subjetiva de esforço, reduzindo a ativação muscular voluntária e também a duração total do exercício aeróbico (NYBO & NIELSEN, 2001; CHEUVRONT *et al.*, 2010). Kunstetter (2013) identificou uma redução de 17,5% na velocidade máxima atingida no exercício progressivo quando o mesmo foi realizado no calor ( $V_{m\acute{a}x}$  em ambiente temperado =  $28,6 \pm 0,7$  m/min; em ambiente quente =  $23,3 \pm 0,8$  m/min) e queda de 18,2% no tempo total de exercício (ambiente temperado = 85,8 min; em ambiente quente = 69,9 min).

Por outro lado, quando expostos a repetidos episódios de elevação da  $T_{INT}$ , seja pela realização de exercício físico, pela exposição a temperaturas ambientais elevadas, ou pela associação entre ambos; humanos e ratos apresentam adaptações nos efeitores termorregulatórios que promovem a atenuação das respostas fisiológicas frente ao mesmo estímulo térmico e o aumento da tolerância ao calor (TOKIZAWA; LIN; NAGASHIMA, 2012; WANNER *et al.*, 2015). Um dos indícios da maior tolerância ao calor é o aumento do tempo total de exercício em ambiente quente. Esse processo de adaptação ao calor, quando ocorre de forma natural durante o tempo de vida de um organismo, reduzindo o estresse térmico gerado pelo clima natural ou mudanças sazonais / geográficas é chamado de **aclimatização** (IUPS, 2001). Já o conjunto de adaptações decorrentes da exposição dos indivíduos de forma artificial ao calor, somado ou não ao exercício físico, é denominado **aclimação** ao calor. Nesse contexto, alguns dos métodos frequentemente utilizados por atletas / militares para induzir aclimação são a

exposição ao calor em câmaras ambientais, imersão em água quente ou do uso de vestimenta aquecida (TAYLOR, 2014).

Nesse sentido, diversos estudos foram elaborados para compreender as respostas termorregulatórias à exposição passiva ao calor (HOROWITZ; PEYSER; MUHLRAD, 1986; GORDON, 1985), ao exercício no calor (NADEL *et al.*, 1974; SAWKA *et al.*, 2011) e as adaptações termorregulatórias decorrentes do treinamento aeróbico (LORENZO *et al.*, 2010; SANTIAGO *et al.*, 2016). Em particular, os estudos sobre a fisiologia da aclimação ao calor visam compreender como ocorre a atenuação da carga térmica imposta pelo ambiente e exercício, bem como a manutenção do desempenho aeróbico prejudicado em ambientes quentes.

### **1.1 Exposição passiva ao calor**

O repouso no calor simula os pequenos e repetidos episódios de exposição à temperatura ambiente natural elevada, sendo que a aplicação de calor externo é capaz de evocar respostas fisiológicas adaptativas como resultado do aumento passivo das temperaturas corporais. A aplicação de calor externo é possibilitada pela imersão em água quente, uso de trajes aquecidos ou isolantes (FOX *et al.*, 1963), sauna ou exposições em câmaras ambientais climatizadas (TAYLOR, 2000). O repouso no calor promove o aumento da produção de suor e saliva, da perda de calor evaporativa, da condutância térmica (ratos e camundongos - GORDON, 2012, 1984; HOROWITZ; MEIRI, 1985), e redução da  $T_{INT}$  e do desconforto térmico quando o animal é exposto cronicamente ao mesmo estresse térmico (FOX *et al.*, 1963). Sareh *et al.* (2011) verificaram que a exposição contínua de camundongos ao calor durante 5 dias induziu aumento da tolerância térmica a nível celular (termotolerância), representada pelo aumento da expressão de proteínas relacionadas ao remodelamento e reparo de dano celular decorrente do estresse térmico (heat shock proteins – HSPs), resultado que foi semelhante ao encontrado em seres humanos aclimatados por meio de exercício no calor durante 10 a 11 dias (YAMADA *et al.*, 2007; MAGALHÃES *et al.*, 2010).

### **1.2 Treinamento aeróbico**

A atividade muscular durante o exercício eleva a temperatura da musculatura e dos tecidos profundos (e.g., cavidade abdominal, torácica e craniana) proporcionalmente à intensidade do estresse metabólico gerado pelo exercício

(NIELSEN, 1966). Uma vez que um estado de equilíbrio é atingido e mantido, o corpo é submetido a uma carga térmica significativa, que decresce lentamente quando o exercício é interrompido (TAYLOR, 2000). Quando essa carga térmica é aplicada de forma regular (hipertermia controlada), o exercício pode promover adaptações termorregulatórias que possibilitam reduzir o estresse térmico, tais como: a redução da  $T_{INT}$  e da frequência cardíaca em repouso, aumento do volume plasmático, maior eficiência evaporativa, melhora da função cardiovascular, bem como a manutenção do débito cardíaco durante o exercício mesmo quando realizado em condições de estresse térmico ambiental (ARMSTRONG *et al.*, 2012; MAGALHÃES *et al.*, 2010). Resultados semelhantes foram observados em ratos após o treinamento aeróbico com corrida em esteira: além do aumento do tempo total de exercício (TTE), velocidade máxima alcançada e trabalho total (110% vs. sedentários), houve a redução da  $T_{INT}$  repouso após 8 semanas de exercício (SANTIAGO *et al.*, 2016). Essas adaptações ao treinamento aeróbico promovem aumento significativo da tolerância ao exercício no calor mesmo quando a perda evaporativa de calor está dificultada (estresse térmico não compensável – CHEUNG & MCLELLAN, 1998; SELKIRK & MCLELLAN 2001; TEIXEIRA-COELHO, 2016) e contribuem para a redução da carga térmica e cardiovascular desses indivíduos, quando submetidos ao exercício no calor em comparação aos seus pares sedentários (ratos - KODESH *et al.*, 2011; humanos - MCLELLAN, 2001). Em suma, indivíduos treinados aerobiamente apresentam adaptações termorregulatórias que facilitam a perda de calor e promovem maior desempenho físico, o que não só minimiza o estresse causado por uma única sessão de exercício no calor, mas também acelera a aquisição do fenótipo aclimatado quando esses indivíduos são expostos posteriormente a um protocolo de aclimatação ao calor (MORA-RODRIGUEZ, 2012; MCLELLAN, 2001).

### **1.3 Exercício no calor**

As adaptações obtidas em resposta ao exercício em ambiente temperado e à exposição passiva ao calor, isoladamente, não são suficientes para compensar o desafio térmico imposto pelo exercício no calor (GREENLEAF, 1964; SHAPIRO *et al.*, 1981; MORA-RODRIGUEZ, 2012), embora contribuam de diferentes formas para



a redução da carga térmica. Nesse contexto, alguns estudos (CHALMERS *et al.*, 2014; GARRETT *et al.*, 2012; LORENZO *et al.*, 2010) sugerem que os benefícios conferidos pela associação entre o exercício aeróbico e a exposição ao calor ambiente podem potencializar as adaptações obtidas isoladamente por essas intervenções, o que poderia levar a um aumento de desempenho aeróbico quando o animal é submetido a uma nova condição de estresse térmico. Se por um lado o exercício contribui para o aumento da produção de calor, o mesmo exercício aeróbico otimiza os mecanismos de dissipação de calor para o ambiente (SAWKA *et al.*, 2011) e conseqüentemente atenua o aumento da  $T_{INT}$  ao longo de diversas sessões de esforço físico, aumentando a sua duração (SANTIAGO *et al.*, 2016). Périard, Caillaud e Thompson (2012) observaram que indivíduos com maior capacidade aeróbica atingiram a fadiga com um maior gradiente entre a  $T_{INT}$  (retal) e a  $T_{PELE}$  e com uma resposta de fluxo cutâneo elevado, quando expostos a exercícios prolongados no calor em intensidades correspondentes a 60% e 75% do  $VO_{2máx}$ . Repetidas sessões de exercício no calor promovem ainda o aumento do volume plasmático, volume de ejeção, débito cardíaco, aumento da taxa e da sensibilidade para a sudorese (NIELSEN *et al.* 1993), além da redução da utilização de glicogênio muscular durante o exercício no calor como consequência de uma menor  $T_{INT}$  e menor quantidade de adrenalina circulante (FEBBRAIO, 2001). Mesmo sem modificações na  $T_{INT}$  final ao longo do período de aclimação (NIELSEN *et al.* 1993; PÉRIARD, CAILLAUD; THOMPSON, 2012), houve uma redução da  $T_{INT}$  de repouso, o que possibilitou um aumento no delta da  $T_{INT}$  que, por sua vez, permitiu uma maior variação da temperatura durante o exercício, contribuindo para maior duração total do esforço físico. Lorenzo *et al.* (2010) avaliaram o impacto de dez sessões de exercício no calor (ciclismo a 50% do  $VO_{2máx}$  em temperatura ambiente de 40 °C) sobre o desempenho aeróbico em uma sessão de exercício até a fadiga no calor (38 °C, URA = 30%) e no frio (13 °C, URA = 30%) e verificaram maiores percentuais de melhora para todas as variáveis citadas a seguir quando os indivíduos foram submetidos ao exercício no calor: aumento do  $VO_{2máx}$  (5% - frio, 8% - calor), aumento do tempo total de exercício (6% - frio, 8% - calor), aumento da potência em que o limiar de lactato foi atingido (5% - frio, 5% - calor), aumento do volume plasmático (1,5% - apenas no calor) e do débito cardíaco (3,4% - frio; 4,6% - calor). Em conjunto, os dados de Nielsen *et al.* (1993) e Lorenzo *et al.* (2010) indicam que a aclimação por meio de exercício crônico no calor promoveu aumento da

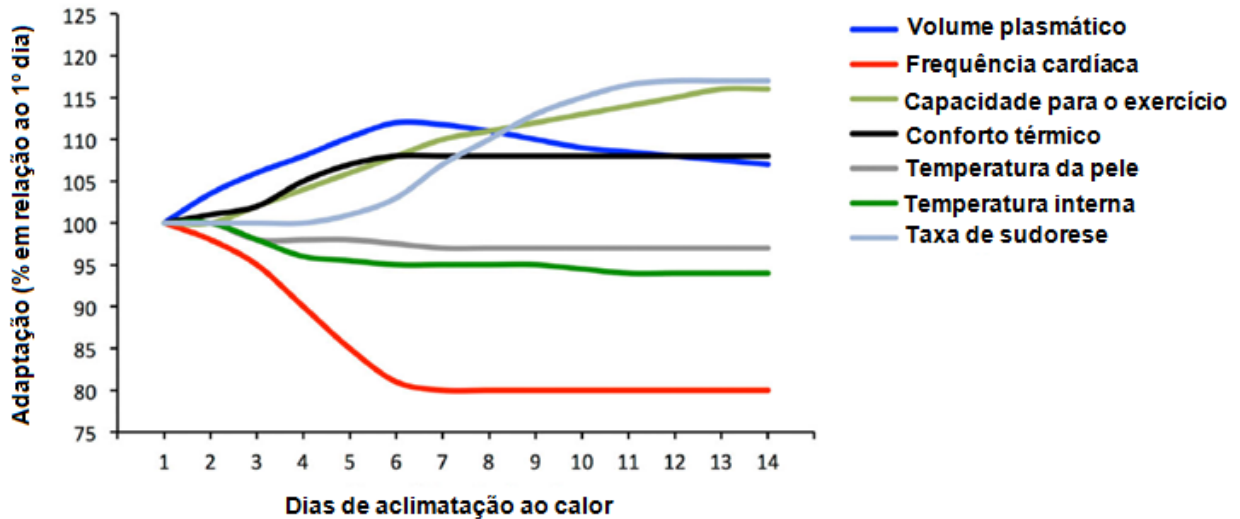
capacidade aeróbica superior ao aumento conferido apenas pelo treinamento aeróbico em ambiente temperado, o que aponta para essa estratégia como a mais eficaz das três estratégias apresentadas para promover a aclimação ao calor, fato que é reforçado pelos resultados de COHEN & GISOLFI (2007 *apud* SAWKA *et al.*, 2015) que observaram maiores reduções na frequência cardíaca e na  $T_{INT}$ , e maior tempo de exercício em indivíduos aclimatados ao calor (por 8 dias), quando comparados a indivíduos treinados aerobicamente em ambiente temperado (por 4 semanas).

#### **1.4 Respostas fisiológicas decorrentes da aclimação ao calor**

O conjunto de adaptações nas respostas fisiológicas ao exercício no calor, que caracterizam o fenótipo aclimatado, compreende as principais adaptações observadas nas três intervenções descritas acima e apresentadas na tabela 1; aquecimento passivo, exercício aeróbico, exercício no calor. Tais adaptações incluem a diminuição da  $T_{INT}$  em repouso, atenuação do aumento da  $T_{INT}$  em exercício, aumento da produção de fluidos corporais (suor e saliva), diminuição da  $T_{PELE}$  e melhora do controle do fluxo sanguíneo cutâneo, redução da frequência cardíaca e manutenção de um maior débito cardíaco durante o exercício no calor e aumento do limiar de lactato (SAWKA *et al.*, 2011; TAYLOR, 2014; PÉRIARD; RACINAIS; SAWKA, 2015). É interessante notar que o fenótipo aclimatado que promove o aumento da tolerância ao calor tem seu ápice após a quinta sessão de aclimação e parece se estabilizar até a décima sessão (figura 1, adaptada de PÉRIARD; RACINAIS; SAWKA, 2015).

**Tabela 1** - Adaptações fisiológicas associadas ao fenótipo de aclimatação ao calor

Adaptação	Consequência	Adaptação	Consequência
<b>T<sub>INT</sub></b> Repouso (temperado) ↓ Exercício ↓	Reduzida	<b>Estabilidade cardiovascular</b> Frequência cardíaca ↓ Volume de ejeção ↑ Débito cardíaco – melhor manutenção PAM – melhor manutenção	Otimizada
<b>Sudorese</b> Limiar ↓ Taxa ↓ Sensibilidade ↑	Otimizada	<b>Metabolismo muscular esquelético</b> Glicogênio muscular ↔ atenuação da ↓ Limiar de Lactato ↑ Lactato muscular e plasmático ↓ Produção de força muscular ↑	Otimizada
<b>T<sub>PELE</sub></b> <b>Fluxo cutâneo</b> Limiar ↓ Taxa (tropic) ↑ Sensibilidade ↑	Reduzida Otimizada	<b>Taxa metabólica total</b>	Reduzida
<b>Balço hídrico</b> Sede ↑ Perda eletrolítica ↓ Fluidos corporais ↑ Volume plasmático ↑	Otimizada	<b>Termotolerância</b> Expressão de proteínas do choque térmico ↑ Citoproteção ↑	Aumentada

**Figura 1** - Percentual de adaptação ao calor ao longo dos dias de aclimatação por meio da realização de exercício em ambiente quente em humanos (adaptado de PÉRIARD; RACINAIS; SAWKA, 2015).

Adaptações fisiológicas e consequências funcionais associadas ao fenótipo de aclimatação ao calor que promovem maior conforto térmico, maior desempenho aeróbio submáximo e aumento da capacidade aeróbica máxima (adaptado de SAWKA *et al.*, 2000, 2011). Na primeira semana da aclimatação ao calor, ocorre a expansão do volume plasmático e o declínio da frequência cardíaca durante o exercício a uma mesma taxa de trabalho. O conforto térmico aumenta de maneira perceptível, enquanto a temperatura interna e da pele reduzem durante o exercício em mesma taxa de trabalho. Já a taxa de sudorese apresenta um aumento mais tardio e gradual durante a segunda semana de aclimatação ao calor, quando comparada às demais adaptações. Em conjunto, essas adaptações favorecem a melhora da capacidade aeróbica.

Ratos representam um modelo experimental comumente utilizado para estudos em termorregulação e exercício, principalmente para estudo de mecanismos neurofisiológicos e moleculares. O Resource Book for the Design of Animal Exercise Protocols publicado pela American Physiological Society (KREGEL *et al.*, 2006) afirma que os animais devem ser usados sempre que a pesquisa tiver como objetivo melhorar a saúde do próprio animal ou quando não é possível que os experimentos sejam realizados em humanos (e.g., controle central da termorregulação) ou quando a intervenção é invasiva ou pode promover danos à saúde dos indivíduos (exposição prolongada a temperaturas extremas, submissão a modelos experimentais de infecção séptica e asséptica, e remoção de tecidos para medida da expressão de proteínas; KREGEL *et al.*, 2006). Apesar de ratos apresentarem diferenças termorregulatórias para humanos (principal mecanismo de perda de calor: evaporação) como a perda evaporativa limitada, vale ressaltar que estudos a nível celular têm demonstrado semelhanças na resposta à exposição a altas temperaturas ambientes entre seres humanos e roedores (ratos e camundongos - KODESH *et al.*, 2011; SAREH *et al.* 2011; humanos - YAMADA *et al.*, 2007; MAGALHÃES *et al.*, 2010), sendo que as respostas celulares observadas em roedores parecem partilhar de mecanismos em comum com a adaptação ao calor em humanos (KUENNEN *et al.*, 2011).

Quando aclimatados ao calor, roedores de laboratório e humanos apresentam adaptações semelhantes (SAREH *et al.*, 2010). Camundongos expostos continuamente à temperatura ambiente de 37 °C, o que gerou hipertermia sustentada (aumento de 2 °C na  $T_{INT}$ ) durante 5 dias e, em seguida, quando expostos de forma aguda a um estresse térmico pelo calor (42 °C durante 40 min) exibiram adaptações semelhantes àquelas observadas em humanos aclimatados. Estas adaptações similares incluem: (1) menor elevação da  $T_{INT}$  e frequência cardíaca durante o estresse térmico, (2) rápido retorno da  $T_{INT}$  aos valores basais no período de recuperação, (3) aumento da atividade locomotora durante o estresse térmico, (4) aumento da tolerância térmica (ao calor); este último, caracterizado por: (A) aumento da expressão basal de HSP72 e HSP90 no pulmão, coração, baço, fígado e cérebro; (B) atenuação do aumento gradativo da expressão HSP72 após o estresse térmico agudo (SAREH *et al.*, 2010), adaptações que também são

observadas em humanos aclimatados (MAGALHÃES *et al.*, 2010; FLOURIS *et al.*, 2014).

Diferente dos estudos de Santiago *et al.* (2016), Teixeira-Coelho (2016), de Patronas *et al.* (1998) e Sareh *et al.* (2011), que avaliaram isoladamente o exercício crônico em ambiente temperado ou a exposição passiva ao calor, a nossa proposta é submeter, cronicamente, os ratos à corrida em esteira em ambiente quente para verificar o efeito somado do estresse térmico ambiental e do calor metabólico produzido pelas contrações musculares sobre as adaptações termorregulatórias e desempenho aeróbico de ratos submetidos a uma sessão de exercício progressivo até a fadiga no calor. Hipotetizamos que a aclimatação ao calor induzida por dez sessões de exercício em ambiente quente possa promover aprimoramento dos mecanismos de dissipação de calor e melhora do desempenho aeróbico acima do aprimoramento observado para as demais estratégias de aclimatação. Além disso, a nossa proposta pretende comparar esses dados com as respostas induzidas pelos protocolos de aclimatação já estudados anteriormente. Esse projeto fortalece a investigação de adaptações centrais e periféricas induzidas pelos diferentes protocolos de aclimatação ao calor, que é uma das linhas de pesquisa desenvolvidas pelos pesquisadores do Laboratório de Fisiologia do Exercício (LAFISE) da UFMG.

### **1.5 Objetivo geral**

Comparar os efeitos de diferentes estratégias de aclimatação ao calor sobre as respostas termorregulatórias e desempenho físico de ratos submetidos a uma sessão de exercício progressivo até a fadiga em ambiente quente.

### **1.6 Objetivos específicos**

Comparar os efeitos de diferentes estratégias de aclimatação ao calor - exposição passiva ao ambiente quente, exercício crônico em ambiente temperado e exercício crônico em ambiente quente - sobre:

- As respostas termorregulatórias ( $T_{INT}$  e da  $T_{PELE}$ ) de ratos, induzidas por uma sessão de exercício com aumentos progressivos de velocidade, realizada em ambiente quente e até a fadiga.

- O desempenho aeróbico (tempo total de exercício, distância percorrida) de ratos durante uma sessão de exercício progressivo realizada em ambiente quente e até a fadiga.

## 1.7 Hipóteses

H1 – Ratos aclimatados por meio da realização de exercício crônico em ambiente quente apresentarão menor elevação da  $T_{INT}$  durante uma sessão de exercício progressivo até a fadiga, realizada sob estresse térmico ambiental, em relação aos ratos controles e aos ratos submetidos às demais estratégias de aclimatação ao calor.

H2 – Ratos aclimatados por meio da realização de exercício crônico em ambiente quente exibirão maior tempo total de exercício, percorrerão maiores distâncias durante uma sessão de exercício progressivo até a fadiga, realizada sob estresse térmico ambiental, em relação aos ratos controles e aos ratos submetidos às demais estratégias de aclimatação.

## 2 MÉTODOS

### 2.1 Cuidados éticos

Os procedimentos utilizados neste estudo foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), sob o protocolo de número 124/2017. Além disso, todos os procedimentos foram conduzidos conforme as normas estabelecidas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (Brasil).

### 2.2 Cálculo do tamanho amostral

Conforme Sampaio (2007), o cálculo do tamanho amostral está ligado ao intervalo de confiança da média, descrito por meio da fórmula apresentada logo abaixo. Quando o valor do desvio padrão é elevado, consideramos a variável instável e, portanto, o número de animais necessários para um intervalo de confiança (IC) de 10% torna o experimento inviável; nesse caso, para viabilizar o experimento sem grande perda na confiabilidade é possível adotar um maior valor para o IC (SAMPAIO, 2007). Neste estudo, o IC adotado foi de 30%. Com base no tempo total de exercício (TTE), obtido por Rabelo *et al.* (2015) no exercício progressivo até a fadiga: média ( $\bar{X}$ ) = 41,0 min; desvio-padrão (s) = 16,1 min.

$$\text{Equação: IC} = \bar{X} \pm t^* s / \sqrt{n}, \text{ para: } t = 2,0$$

$$\text{IC} = 30\% \text{ de } 41,0 \text{ min} = 12,3 \text{ min}$$

$$12,3 = 2 * 16,1 / \sqrt{n}, n = 6,85$$

Sendo,  $\bar{X}$  = média do TTE, s = desvio padrão da média;  $\sqrt{n}$  = número de ratos por grupo amostral, t = abscissa da distribuição t de *student* (t = 2,0). Como o cálculo resultou em um valor de 6,85; decidimos arredondar o valor para o número inteiro imediatamente superior: 7. Ao número amostral por grupo (n = 7) foi acrescentado 10% (= 0,7 ratos) apenas nos grupos exercitados, para antecipar uma possível perda amostral, devido ao fato de alguns ratos não correrem na esteira rolante; portanto, o número final de ratos em cada grupo exercitado correspondeu a n = 8 (7 + 1).

### 2.3 Animais

Foram utilizados ratos Wistar ( $n= 30$ ), adultos, pesando entre 250 - 350 g, provenientes do Centro de Bioterismo do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG. Os ratos foram acomodados coletivamente (grupos de quatro ratos) em caixas de polipropileno forradas com maravalha e mantidas em uma sala com temperatura controlada a  $24 \pm 1$  °C, sob um ciclo claro / escuro de 14 h: 10 h (luzes acesas às 5 h). Os ratos receberam água filtrada e ração para roedores (Presence) *ad libitum*.

### 2.4 Familiarização

Os ratos foram submetidos à familiarização à corrida em esteira rolante para roedores (GAUSTEC Magnetismo) durante cinco dias consecutivos em ambiente temperado (24 °C), sendo que, nos primeiros 5 min, os ratos repousaram na esteira. Nos minutos seguintes, os ratos foram submetidos à corrida com inclinação da esteira mantida a 5% ao longo de todo o protocolo, sendo que os valores de velocidade e duração estão apresentados na tabela 2 (TEIXEIRA-COELHO *et al.*, 2017). Um estímulo elétrico (0,5 mA), fornecido através de uma grade localizada no final da esteira, foi utilizado para incentivar os ratos a correr. A familiarização teve como objetivo: 1) orientar o sentido da corrida, 2) diminuir a exposição dos ratos ao estímulo elétrico durante as sessões de aclimação ao calor e as situações experimentais (WANNER *et al.*, 2007). A partir do 3º dia de familiarização, um sensor (MEAS 440 series) foi inserido no cólon, 8 cm a partir do esfíncter anal (ROMANOVSKY; CHRISTOPHER; VLADIMIR, 1998), bem como um termopar (MIT-EXACTA - Termopar Convencional Tipo "T") foi afixado à cauda dos ratos a  $\approx 1$  cm de distância da base da cauda; estes procedimentos foram importantes para que os ratos se acostumassem às medidas da  $T_{INT}$  e  $T_{PELE}$  que foram realizadas em vários momentos do delineamento experimental. O critério para considerar os ratos familiarizados à corrida foi determinado de forma visual, quando os ratos conseguiram correr no terço anterior da esteira e reduziram o número de exposições ao estímulo elétrico. De acordo com observações feitas em estudo anterior do nosso laboratório, isso pode ser verificado a partir do 3º dia de familiarização (DAMASCENO *et al.*, dados não publicados).



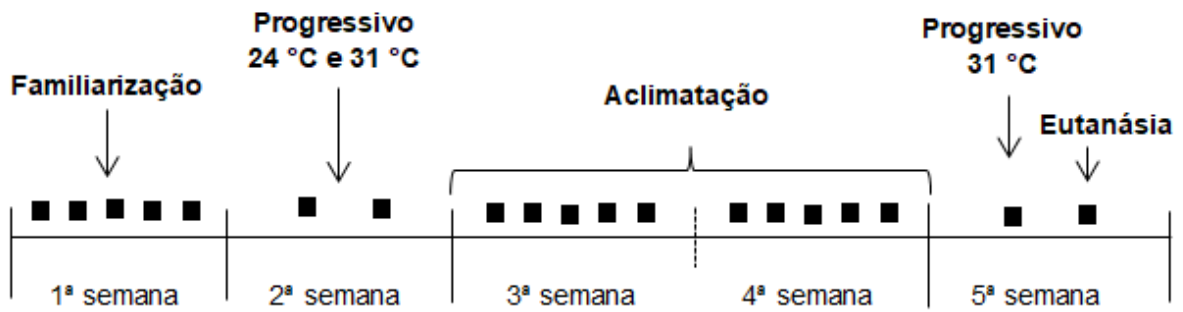
**Tabela 2** - Protocolo de familiarização à corrida em esteira rolante com duração de cinco dias

<b>Tempo</b>	<b>1º dia</b>	<b>2º dia</b>	<b>3º ao 5º dia</b>
<b>5 min</b>	0 m/min	0 m/min	0 m/min
<b>1 min</b>	10 m/min	12 m/min	-
<b>1 min</b>	12 m/min	-	-
<b>5 min</b>	15 m/min	15 m/min	15 m/min

## 2.5 Exercício progressivo

Vinte e quatro horas após a familiarização, os ratos foram submetidos a dois exercícios progressivos até a fadiga, realizados de forma balanceada, sendo um deles em ambiente temperado (24 °C) para determinação do desempenho aeróbico intrínseco (avaliado pelo TTE); e o outro em ambiente quente (31 °C) para avaliar o desempenho aeróbico intrínseco no calor (figura 2). Entre o primeiro e o segundo exercício progressivo foi dado um intervalo de  $\approx$  48 h de repouso e, 24 h após o segundo exercício progressivo, os ratos foram divididos entre os grupos experimentais com base no TTE no exercício progressivo a 24 °C, de forma que todos os grupos contivessem ratos com TTE semelhantes. A ordem dos exercícios progressivos pré-intervenção foi determinada de forma balanceada para evitar que os ratos apresentassem um possível efeito de aprendizagem referente à corrida em esteira rolante.

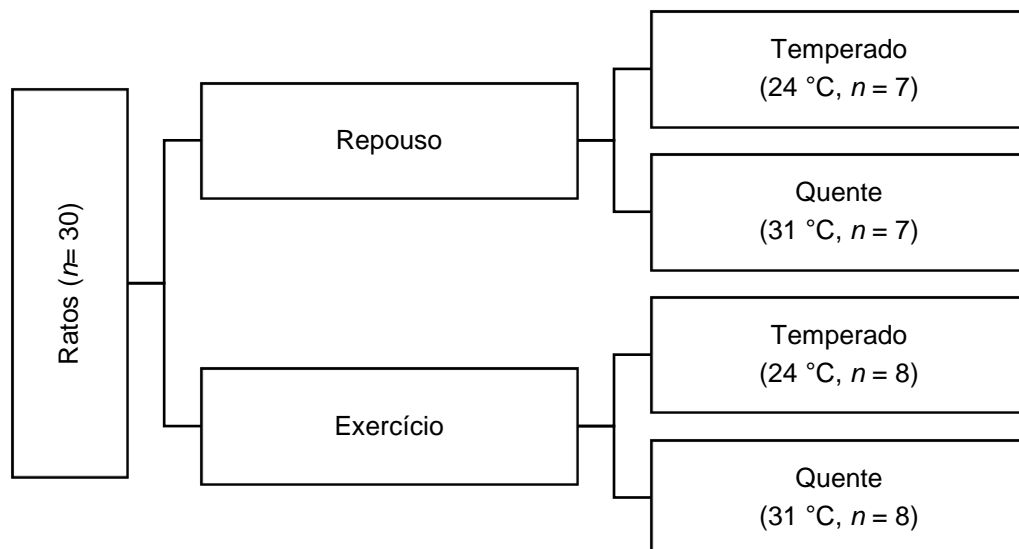
Vinte e quatro horas após a última sessão de aclimatação, os ratos foram submetidos ao segundo exercício progressivo em ambiente quente (31 °C) para avaliação da alteração no desempenho aeróbico no calor causada pela intervenção. Os exercícios progressivos consistiram de corrida na esteira rolante, com velocidade inicial de 10 m/min e inclinação fixa de 5%, e com aumentos de 1 m/min na velocidade a cada 3 min de exercício até que os ratos fadigassem (PRÍMOLA-GOMES *et al.*, 2009). A fadiga foi determinada quando os ratos mantiveram a corrida no terço posterior da esteira e permaneceram por um período de 10 s consecutivos sobre a grade de estímulo elétrico (WANNER *et al.*, 2007).



**Figura 2** - Linha do tempo do delineamento experimental

## 2.6 Grupos experimentais

Um dia após o primeiro exercício progressivo a 31 °C, os ratos foram distribuídos em quatro grupos experimentais: exercício crônico em ambiente quente (E 31), exercício crônico em ambiente temperado (E 24), repouso em ambiente quente (R 31), repouso em ambiente temperado (R 24; figura 3). Esta distribuição possibilitou que o TTE dos ratos pertencentes aos diferentes grupos não fosse diferente no início das intervenções.



**Figura 3** - Distribuição do n amostral nos quatro grupos experimentais

Os ratos dos grupos controles (R 31 e R 24) foram submetidos a 2 min de corrida na mesma velocidade daquela dos grupos E, para manter a familiaridade com o exercício em esteira rolante. Vale ressaltar que o exercício crônico nesta intensidade e duração não melhora a capacidade aeróbica de ratos (TEIXEIRA-COELHO, 2017). Após a corrida, os ratos R 31 e R 24 permaneceram, por um tempo pré-estabelecido em repouso na esteira, com o sensor colônico inserido e o termopar afixado na cauda. Quando somados, os 2 min de corrida e o tempo de repouso corresponderam a uma duração total equivalente à duração do exercício crônico nos grupos E; dessa forma, todos os ratos dos grupos R e E foram expostos durante o mesmo tempo à esteira rolante e ao ambiente temperado ou quente. As atividades que os grupos mantidos em repouso realizaram, ao longo das 2 semanas, estão apresentadas na tabela 3. Essas atividades possibilitaram submeter os ratos dos grupos R a estresses semelhantes de manipulação e mudança de ambiente (do biotério para a esteira) àqueles observado nos ratos dos grupos E.

**Tabela 3** - Atividades que os grupos mantidos em repouso (R 31 e R 24) realizaram no período correspondente à aclimação ao calor dos grupos exercitados (E 31 e E 24)

<b>Grupos</b>	<b>Repouso a 24 °C (E 24) e a 31 °C (E 31)</b>				
<b>Sessões</b>	1 – 2	3 - 4	5 – 6	7 - 8	9 - 10
<b>Velocidade R 24</b>	17 m/min	17,5 m/min	18 m/min	18,5 m/min	19 m/min
<b>Velocidade R 31</b>	14 m/min	14,5 m/min	15 m/min	15,5 m/min	16 m/min
<b>Atividade e duração</b>	2 min corrida, 38 min em repouso	2 min corrida, 40 min em repouso	2 min corrida, 42 min em repouso	2 min corrida, 44 min em repouso	2 min corrida, 46 min em repouso

## 2.7 Exercício crônico em diferentes temperaturas ambientais

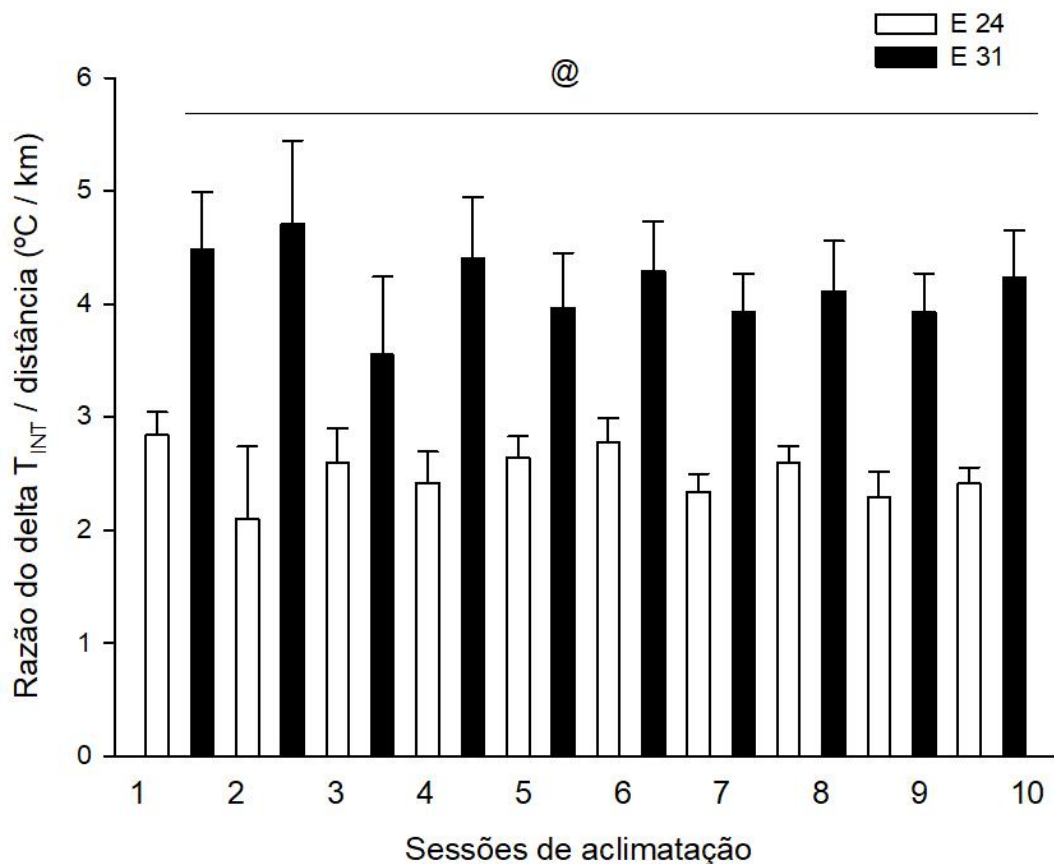
Os ratos foram submetidos a cinco sessões semanais de corrida em esteira rolante para roedores, com duração inicial de 40 min (duas primeiras

sessões). Foram realizados aumentos de 2 min na duração e de 3% na intensidade a cada duas sessões até o final da segunda semana de aclimatação, quando os ratos correram 48 min a 72% da velocidade máxima registrada antes da intervenção; a inclinação da esteira foi mantida sempre a 5% ao longo de todo o protocolo (tabela 4). A velocidade inicial de corrida foi estabelecida com base nos resultados obtidos por Kunstetter (2013) e ajustada para corresponder a 60% da velocidade máxima de corrida dos ratos nas respectivas temperaturas ambientes (24 °C = 17 m/min e 31 °C = 14 m/min). A escolha da intensidade inicial (60%) teve como base estudos sobre aclimatação ao calor que indicaram exercícios em intensidade moderada em ambiente quente como mais toleráveis, permitindo a manutenção do esforço físico por períodos prolongados (PERIARD; RACINAIS; SAWKA, 2015); e o aumento progressivo da intensidade e duração foi feito para manter a mesma intensidade de estímulo termorregulatório ao longo das 10 sessões (figura 4). Durante cada sessão de aclimatação, foram medidas  $T_{INT}$ ,  $T_{PELE}$  e  $T_{AMB}$ . A temperatura colônica foi escolhida como medida da  $T_{INT}$  tanto para não expor os ratos à cirurgia de inserção do sensor abdominal, quanto devido ao longo período em que os sensores permaneceriam em uso em um só experimento, inviabilizando outras pesquisas com este equipamento no mesmo período.

**Tabela 4** - Duração e intensidade das 10 sessões de aclimatação nos grupos exercitados

<b>Grupos</b>	<b>Exercício a 24 °C (E 24) e a 31 °C (E 31)</b>				
<b>Sessões</b>	1 – 2	3 - 4	5 - 6	7 - 8	9 - 10
<b>Velocidade E 24</b>	17,0 m/min	17,5 m/min	18,0 m/min	18,5 m/min	19,0 m/min
<b>Velocidade E 31</b>	14,0 m/min	14,5 m/min	15,0 m/min	15,5 m/min	16,0 m/min
<b>Duração</b>	40 min	42 min	44 min	46 min	48 min

A variação na intensidade e duração das sessões de exercício foi elaborada de forma a manter a mesma intensidade de estímulo termorregulatório ao longo de todas as sessões de intervenção, método conhecido como isotérmico (ou hipertermia controlada). Para representar esse estímulo, foi calculada a razão entre a  $\Delta T_{INT}$  e a distância percorrida ( $\Delta ^\circ C / km$ ) para cada sessão de intervenção foram calculados e comparados entre os dois ambientes (31  $^\circ C$  vs. 24  $^\circ C$ ) e ao longo das 10 sessões de intervenção. A  $\Delta T_{INT} / km$  foi avaliada por meio de uma ANOVA two-way com medidas repetidas apenas para o fator sessão, não foram identificadas diferenças entre as sessões (efeito principal de sessões;  $F = 0,411$ ;  $p = 0,928$ ); o grupo E 31 apresentou maiores valores para essa razão do que o grupo E 24 (efeito principal de ambiente;  $F = 80,125$ ;  $p < 0,001$ ); não houve interação entre os fatores sessão e ambiente ( $F = 0,547$ ;  $p = 0,838$ ). Esses dados indicam que os estímulos termorregulatórios aplicados aos grupos E 31 e E 24 foram mantidos constantes durante todos os 10 dias de intervenção, sendo esses estímulos maiores para o grupo E 31 (figura 4).



**Figura 4** - Razão  $\Delta$  TINT por quilômetro percorrido ( $\Delta$  °C / km) em cada sessão de intervenção (1ª a 10ª) de ratos para os grupos exercitados. E 24 = exercício a 24 °C; E 31 = exercício a 31 °C. @ efeito principal de ambiente ( $p < 0,001$ ).

### 2.7.1 Controle das condições ambientais

A temperatura ambiente de 24 °C corresponde à temperatura em que os ratos são mantidos no biotério. A determinação da temperatura no ambiente quente, cujos experimentos foram realizados a 31 °C, se deu com base no estudo de Drummond *et al.* (2016) em que os ratos exercitados a 31 °C apresentam maiores aumentos das temperaturas cerebral, abdominal e da cauda e redução do desempenho aeróbico em comparação com ratos mantidos a 24 °C. Essa temperatura foi capaz de reduzir o desempenho dos ratos no primeiro exercício progressivo a 31 °C, mas não impediu a conclusão das 10 sessões de aclimação. Durante os experimentos nos grupos expostos a 31 °C, foram posicionados dois aquecedores (Britânia AB 110), um na parte anterior e um na parte posterior na esteira. Tanto a 31 °C quanto a 24 °C, a temperatura ambiente foi medida

posicionando-se um sensor (Thermistor YSI EZ-YSI-402) no interior da esteira próximo ao rato.

## 2.8 Eutanásia

Um dia após o exercício progressivo pós-intervenção, os ratos foram anestesiados profundamente por meio de aplicação de cetamina (120 mg/kg i.p.) e xilazina (15 mg/kg i.p.), diluídas em solução única, e eutanasiados por exsanguinação, ou seja, morte pela indução de hipovolemia aguda. Escolhemos esse método devido à proposta inicial deste estudo de analisar a ativação de centros termorregulatórios, o que exigia a realização do procedimento de perfusão; no entanto, devido a dificuldades logísticas não foi possível apresentar estes resultados no presente estudo.

## 2.9 Variáveis medidas

Os valores de  $T_{PELE}$ ,  $T_{INT}$  e  $T_{AMB}$  foram registrados a cada 1 min durante os exercícios progressivos (31 °C e 24 °C) e as sessões de intervenção.

- $T_{INT}$ : foi medida por um termossensor (MEAS 440 series) inserido a 8 cm além do esfíncter anal, distância que corresponde ao cólon do rato, conforme descrito por Donhoffer (1980 *apud* ROMANOVSKY; SIMONS; KULCHITSKY, 1998).
- $T_{PELE}$ : o termopar (MIT-EXACTA -Termopar Convencional Tipo "T") para medida da  $T_{PELE}$  foi posicionado na superfície lateral da cauda, devido ao posicionamento lateral das veias responsáveis pelo retorno venoso (YOUNG & DAWSON, 1982). Além disso, o termopar foi afixado a 1 cm da base da cauda, espaço necessário para a fixação com esparadrapo sem contato com os pelos do rato. A troca de calor entre a pele e o ambiente ocorre principalmente na porção proximal da cauda (a poucos cm da sua base); neste contexto, a porção distal da cauda tem sido considerada altamente pecilotérmica, visto que a temperatura distal da cauda reproduz os valores de temperatura ambiente (THORINGTON, 1966).
- $T_{AMB}$ : foi medida através de um termopar (Thermistor YSI EZ-YSI-402) afixado no teto da caixa de acrílico que envolve a esteira rolante.

- Tempo total de exercício (TTE): o tempo transcorrido entre o início e a interrupção do exercício (fadiga) foi utilizado como índice do desempenho aeróbico dos ratos.
- Massa corporal (g): os ratos foram pesados diariamente e a variação de massa utilizada como indicadores indiretos do estado de hidratação e da saúde dos ratos.

## 2.10 Variáveis calculadas

- Distância percorrida (m): foi calculada a distância para cada estágio completo e para o estágio incompleto durante o exercício progressivo. Na sequência, essas distâncias correspondentes a cada estágio foram somadas, conforme a equação descrita abaixo:

$$D1 = V1 \cdot t1; D2 = V2 \cdot t2; \dots D_{INC} = V_{INC} \cdot t_{INC}$$

$$Dt = D1 + D2 + D3 + D4 \dots + D_{INC}$$

Onde, D = distância percorrida (m),  $D_{INC}$  = distância do estágio incompleto (m), V = velocidade (m/min),  $V_{INC}$  = velocidade do estágio incompleto, t = tempo total do estágio (min),  $t_{INC}$  = tempo no estágio incompleto, Dt = distância total (m).

- Velocidade máxima de corrida ( $V_{máx.}$ ; m/min): foi calculada a partir da equação adaptada do estudo de Kuipers *et al.* (1985):

$$V_{máx.} = V + (t / 180)$$

Onde, V = velocidade do último estágio completo (m/min); t = tempo, em segundos, permanecido no estágio incompleto.

- Razão entre a  $\Delta T_{INT}$  e a distância percorrida ( $\Delta^{\circ}C / km$ ): foi calculada dividindo-se a variação da  $T_{INT}$  ( $\Delta T_{INT}$  final -  $\Delta T_{INT}$  inicial) pela quilometragem percorrida durante o exercício (km):

$$\text{Razão} = (\Delta T_{INT} \text{ final} - \Delta T_{INT} \text{ inicial}) / km$$

Sendo que,  $\Delta T_{INT}$  = variação da temperatura interna (em  $^{\circ}C$ ) entre o fim e o início do exercício; e km = distância total percorrida durante o exercício. É importante destacar que esta razão está inversamente relacionada à eficiência



termorregulatória; ou seja, quanto menor a razão, mais eficiente é a termorregulação do rato.

### **2.11 Análise estatística**

As variáveis foram submetidas ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk e, uma vez que a maioria das variáveis medidas apresentaram distribuição normal, foram descritas como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM). O nível de significância adotado foi de  $\alpha = 5\%$  e o software estatístico utilizado para as análises foi o Sigma Plot versão 11.0. As variáveis de controle, as variáveis termorregulatórias e de desempenho aeróbico medidas durante o exercício progressivo (a 24 °C ou 31 °C) pré-intervenção foram analisadas através de ANOVAs one-way, levando-se em consideração o fator grupo. Quando as variáveis não apresentaram distribuição normal, foram realizadas ANOVAs one-way em postos (Kruskal-Wallis).

As variáveis de controle, variáveis termorregulatórias e de desempenho para a primeira ou décima sessão de aclimação foram analisadas por meio de ANOVAs two-way, levando-se em consideração os fatores ambiente (24 °C vs. 31 °C) e tratamento (E vs. R). As curvas de cinética das temperaturas corporais para as sessões de aclimação (1ª ou 10ª) foram analisadas por meio de ANOVAs three-way, as quais avaliaram os fatores tempo (medidas feitas ao longo das sessões), ambiente e tratamento. A razão entre o  $\Delta T_{INT}$  e a distância percorrida ( $\Delta$  °C / km) foi comparada ao longo das sessões de intervenção (da 1ª até a 10ª) e entre grupos exercitados (E 24 vs. E 31) por meio de uma ANOVA two-way, com medidas repetidas apenas para o fator sessão de intervenção.

Para o exercício progressivo pós-intervenção a 31 °C, as variáveis de controle foram analisadas através de ANOVAs one-way para o fator grupo. As curvas de cinética das temperaturas corporais foram analisadas por meio de ANOVAs three-way, as quais avaliaram os efeitos dos fatores tempo (ao longo do exercício), ambiente da intervenção e tratamento. Para as variáveis termorregulatórias e de desempenho aeróbico foi calculada a variação causada pela intervenção ( $\Delta$  = valor obtido no exercício progressivo pós-intervenção a 31 °C; valor obtido no exercício progressivo pré-intervenção a 31 °C) e os dados expressos em delta foram comparados entre grupos e ambientes da intervenção através de ANOVAs two-way.

### 3 RESULTADOS

#### 3.1 Progressivo a 24 °C

##### 3.1.1 Variáveis de controle, variáveis fisiológicas e de desempenho aeróbico de ratos submetidos ao exercício progressivo

Antes de alocar os ratos aos quatro grupos experimentais, os animais foram submetidos a dois exercícios progressivos: o primeiro foi realizado a 24 °C, enquanto o segundo a 31 °C. O objetivo desses exercícios foi assegurar que os ratos alocados aos diferentes grupos apresentassem capacidade aeróbica e respostas termorregulatórias intrínsecas semelhantes. Assim, poderíamos assegurar que as diferenças observadas no momento pós-intervenção seriam causadas pelas intervenções e não por diferenças intrínsecas nas respostas avaliadas.

As variáveis fisiológicas avaliadas,  $T_{INT}$  inicial,  $T_{INT}$  na fadiga,  $\Delta T_{INT}$ , razão  $\Delta T_{INT} /$  distância percorrida,  $T_{PELE}$  inicial e  $T_{PELE}$  na fadiga não foram diferentes no momento pré-intervenção entre os ratos que posteriormente foram alocados aos quatro diferentes grupos experimentais (tabela 5).

O TTE foi utilizado para parear o desempenho aeróbico intrínseco dos ratos alocados para os diferentes grupos e possibilitou calcular a velocidade máxima alcançada pelos ratos, a qual, por sua vez, foi utilizada para determinar a intensidade do exercício posteriormente realizado no ambiente temperado (grupo E 24). As variáveis de desempenho aeróbico, o TTE e a distância percorrida não foram diferentes no momento pré-intervenção entre os ratos alocados aos diferentes grupos experimentais (tabela 5).

Por fim, as variáveis de controle, massa corporal e a  $T_{AMB}$  na fadiga, não foram diferentes no momento pré-intervenção entre os ratos alocados aos diferentes grupos (tabela 5). A  $T_{AMB}$  inicial do grupo E 31 foi menor em relação ao grupo E 24 ( $p < 0,05$ ), mas essa diferença não alterou a resposta termorregulatória ( $T_{INT}$  inicial,  $T_{INT}$  na fadiga,  $\Delta T_{INT}$ , razão  $\Delta T_{INT} /$  distância percorrida) nem o desempenho dos ratos (TTE e distância percorrida), conforme relatado acima.

**Tabela 5** - Variáveis de controle, variáveis fisiológicas e desempenho aeróbico dos ratos durante o exercício progressivo a 24 °C realizado antes das intervenções

PROGRESSIVO 24 °C						
Parâmetro	R 24	R 31	E 24	E 31	F	p
TTE (min)	55,2	58,3	59,0	60,3	0,499	0,686
EPM	3,3	3,1	2,6	3,1		
TINT inicial (°C)	36,96	37,12	36,82	36,82	1,483	0,242
EPM	0,07	0,11	0,15	0,10		
TINT fadiga (°C)	40,75	40,71	40,14	40,74	1,562	0,223
EPM	0,20	0,35	0,13	0,26		
Δ TINT (°C)	3,79	3,59	3,32	3,92	H=4,264†	0,234
EPM	0,22	0,36	0,10	0,24		
Distância (m)	1044	1129	1148	1191	0,481	0,698
EPM	94	91	75	93		
Razão Δ TINT / distância (°C / km)	3,77	3,24	2,96	3,49	1,170	0,340
EPM	0,35	0,33	0,15	0,41		
Massa corporal(g)	268	263	252	271	0,882	0,463
EPM	12	10	8	8		
TPELE inicial (°C)	26,8	26,3	26,7	26,0	0,247	0,863
EPM	0,4	0,8	0,6	1,0		
TPELE final (°C)	31,8	31,8	30,9	32,5	1,923	0,151
EPM	0,7	0,3	0,6	0,4		
TAMB inicial (°C)	24,13	23,59	24,27	23,51 c	3,626	0,026
EPM	0,08	0,20	0,16	0,29		
TAMB fadiga (°C)	24,36	24,61	24,20	24,44	1,165	0,342
EPM	0,14	0,12	0,18	0,17		

Variáveis analisadas por meio de ANOVAs one-way. EPM = erro padrão da média, TAMB = temperatura ambiente, TINT = temperatura corporal interna, TPELE = temperatura da pele, TTE = tempo total de exercício. † ANOVA one-way em postos (Kruskal-Wallis). c -  $p < 0,05$  vs. grupo E 24.

### 3.2 Progressivos a 31 °C pré-intervenção

#### 3.2.1 Variáveis controles, variáveis fisiológicas e de desempenho aeróbico de ratos submetidos ao exercício progressivo

As variáveis fisiológicas ( $T_{INT}$  inicial,  $T_{INT}$  na fadiga,  $\Delta T_{INT}$ ,  $T_{PELE}$  inicial,  $T_{PELE}$  na fadiga e razão  $\Delta T_{INT} / \text{km}$  percorrido), as variáveis de desempenho aeróbico (TTE e distância percorrida) e as variáveis de controle (massa corporal dos ratos,  $T_{AMB}$  inicial e  $T_{AMB}$  na fadiga) não foram diferentes no momento pré-intervenção entre os ratos que foram alocados posteriormente aos grupos experimentais (tabela 6). Em conjunto com os dados da tabela 5, esses dados demonstram que a alocação dos ratos nos grupos experimentais foi adequada. Vale destacar que o TTE possibilitou calcular a velocidade máxima alcançada pelos ratos, a qual, por sua vez, foi utilizada para determinar a intensidade do exercício posteriormente realizado no ambiente quente (grupo E 31).

**Tabela 6** - Variáveis de controle, variáveis fisiológicas e desempenho aeróbico dos ratos durante exercício progressivo a 31 °C antes das intervenções

<b>PROGRESSIVO 31 °C PRÉ</b>						
<b>Parâmetro</b>	<b>R 24</b>	<b>R 31</b>	<b>E 24</b>	<b>E 31</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
<b>TTE (min)</b>	52,1	54,3	52,0	54,4	0,163	0,920
<b>EPM</b>	4,6	2,8	3,5	2,3		
<b>TINT inicial (°C)</b>	36,85	37,03	36,59	36,69	1,806	0,171
<b>EPM</b>	0,11	0,19	0,12	0,14		
<b>TINT fadiga (°C)</b>	41,46	41,26	40,54	41,10	1,739	0,184
<b>EPM</b>	0,15	0,30	0,40	0,28		
<b>Δ TINT (°C)</b>	4,62	4,23	3,95	4,41	1,403	0,264
<b>EPM</b>	0,16	0,23	0,33	0,17		
<b>Distância (m)</b>	968	1015	958	1017	0,122	0,946
<b>EPM</b>	124	75	89	60		
<b>Razão Δ TINT / distância (°C / km)</b>	5,30	4,27	4,22	4,52	H=1,218†	0,749
<b>EPM</b>	0,70	0,29	0,26	0,49		
<b>TPELE inicial (°C)</b>	28,44	28,37	26,99	27,25	H=1,245†	0,742
<b>EPM</b>	0,57	0,73	1,01	1,17		
<b>TPELE fadiga (°C)</b>	34,66	34,10	32,93	33,94	1,137	0,352
<b>EPM</b>	0,60	0,81	0,60	0,70		
<b>Massa corporal (g)</b>	262	258	251	270	H=1,925†	0,588
<b>EPM</b>	12	8	8	5		
<b>TAMB inicial (°C)</b>	30,99	31,60	31,40	31,34	1,558	0,223
<b>EPM</b>	0,27	0,28	0,15	0,21		
<b>TAMB fadiga (°C)</b>	31,82	31,51	31,41	31,83	H=2,363†	0,501
<b>EPM</b>	0,31	0,14	0,19	0,15		

Variáveis analisadas por meio de ANOVAs one-way. EPM = erro padrão da média, TAMB = temperatura ambiente, TINT = temperatura corporal interna, TPELE = temperatura da pele, TTE = tempo total de exercício. † ANOVA one-way em postos (Kruskal-Wallis).

### 3.3 Primeira sessão de aclimação

#### 3.3.1 Variáveis de controle e fisiológicas

Conforme esperado, as  $T_{INT}$  e  $T_{PELE}$  iniciais não foram influenciadas pelo tratamento e nem pelo ambiente e também não foram observadas interações significativas para esses dois fatores nas temperaturas corporais iniciais (tabela 7). A  $T_{INT}$  final e a variação da  $T_{INT}$  ( $\Delta T_{INT}$ ) foram maiores nos grupos E em relação aos grupos R (efeito principal de tratamento) e maiores a 31 °C do que a 24 °C (efeito principal de ambiente); não houve interação entre os dois fatores para a  $T_{INT}$  final e a  $\Delta T_{INT}$ . A  $T_{PELE}$  final foi maior nos grupos exercitados (efeito principal de tratamento) e nos grupos expostos a 31 °C (efeito principal de ambiente) e ainda houve interação entre os dois fatores. A  $T_{PELE}$  final dos ratos dos grupos R 31, E 24 e E 31 foi maior que a temperatura do grupo R 24.

Conforme planejado no nosso delineamento experimental, a distância percorrida foi maior nos grupos exercitados (efeito principal de tratamento,  $F = 3675,00$ ;  $p < 0,001$ ), menor nos grupos expostos a 31 °C (efeito principal de ambiente,  $F = 31,90$ ;  $p < 0,001$ ), mas não houve interação entre os dois fatores (tabela 7). A razão  $\Delta T_{INT} /$  distância percorrida foi calculada apenas para os grupos exercitados, através de um teste  $t$  de Student, que identificou maiores valores para o grupo E 31 ( $4,48 \pm 0,20$  °C/km) em comparação ao grupo E 24 ( $2,84 \pm 0,51$  °C/km;  $p = 0,010$ ) na primeira sessão de aclimação, indicando que o grupo E 31 apresentou menor eficiência termorregulatória e acumulou 57,7% mais calor que o grupo E 24 para cada quilômetro percorrido.

As  $T_{AMB}$  inicial e final foram diferentes entre os ambientes experimentais adotados (efeito principal de ambiente). No entanto, não foram observados efeito principal de tratamento e nem interação entre os dois fatores, o que indica que não houve diferenças entre tratamentos (E vs. R) para a mesma  $T_{AMB}$  a que os ratos foram expostos (24 °C vs. 31 °C; tabela 7).

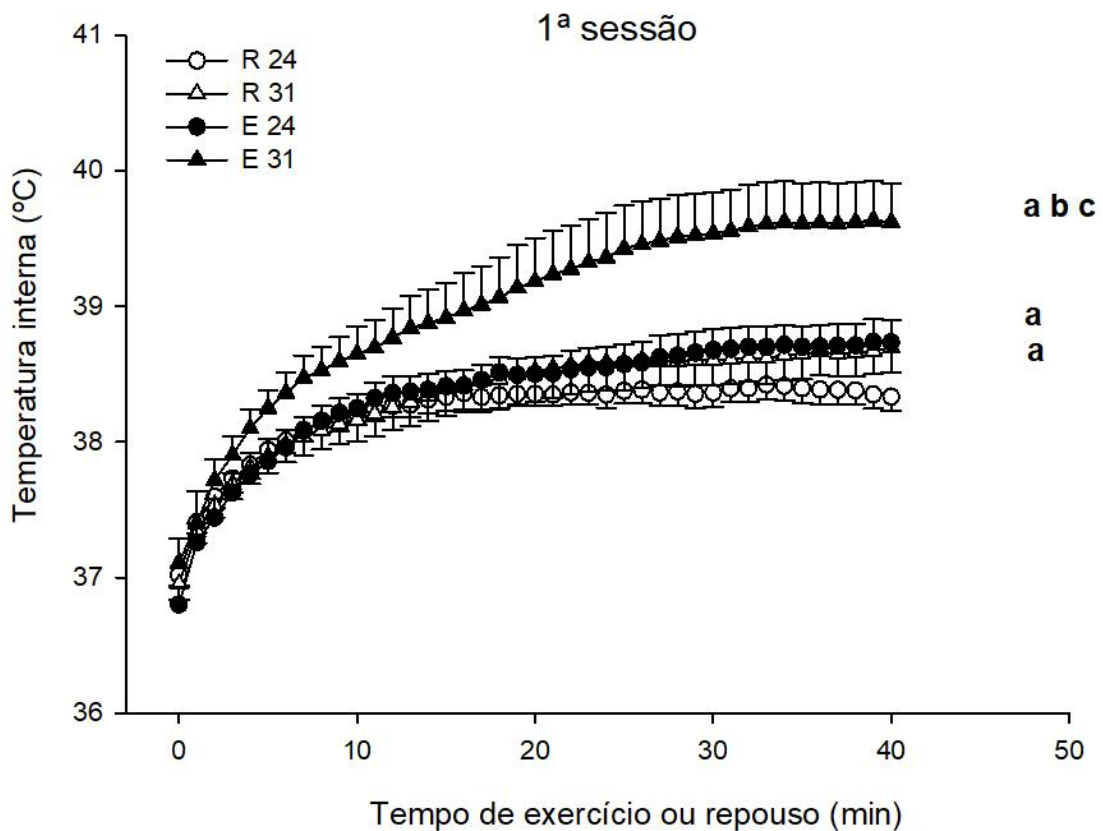
**Tabela 7** - Variáveis fisiológicas e de controle durante a primeira sessão de aclimação

PRIMEIRA SESSÃO DE ACLIMATAÇÃO							
Parâmetro	R 24	R 31	E 24	E 31	p 1	p 2	p 3
TINT inicial (°C)	37,02	36,95	36,80	37,11	0,826	0,371	0,169
EPM	0,08	0,12	0,12	0,18			
TINT final (°C)	38,33	38,69	38,73	39,62	0,003&	0,005@	0,207
EPM	0,10	0,18	0,17	0,29			
Distância (m)	34	14	680	360	<0,001&	<0,001@	<0,001
EPM	0	0	0	0			
Δ TINT (°C)	1,31	1,74	1,93	2,51	0,001&	0,014 @	0,696
EPM	0,12	0,14	0,14	0,29			
TPELE inicial (°C)	26,80	26,39	26,15	27,34	0,840	0,606	0,289
EPM	0,42	0,87	0,66	0,87			
TPELE final (°C)	26,69	30,87 <sup>a</sup>	30,94 <sup>a</sup>	32,19 <sup>a</sup>	<0,001	<0,001	0,027
EPM	0,77	0,77	0,46	0,52			
TAMB inicial (°C)	24,17	31,05	23,95	31,89	0,289	<0,001@	0,061
EPM	0,38	0,25	0,11	0,24			
TAMB final (°C)	24,35	30,30	24,35	31,58	0,197	<0,001@	0,198
EPM	0,10	0,14	0,17	0,08			

Variáveis analisadas por meio de ANOVAs two-way. **p 1** = valor de **p** referente ao tratamento; **p 2** = valor de **p** referente ao ambiente em que foram realizados os tratamentos; **p 3** = valor de **p** referente à interação. a - **p** < 0,05 vs. grupo R 24.& efeito principal de tratamento (**p** < 0,05). @ efeito principal de ambiente (**p** < 0,05).

### 3.3.2 Curvas de cinética das temperaturas corporais durante a 1ª sessão de aclimação

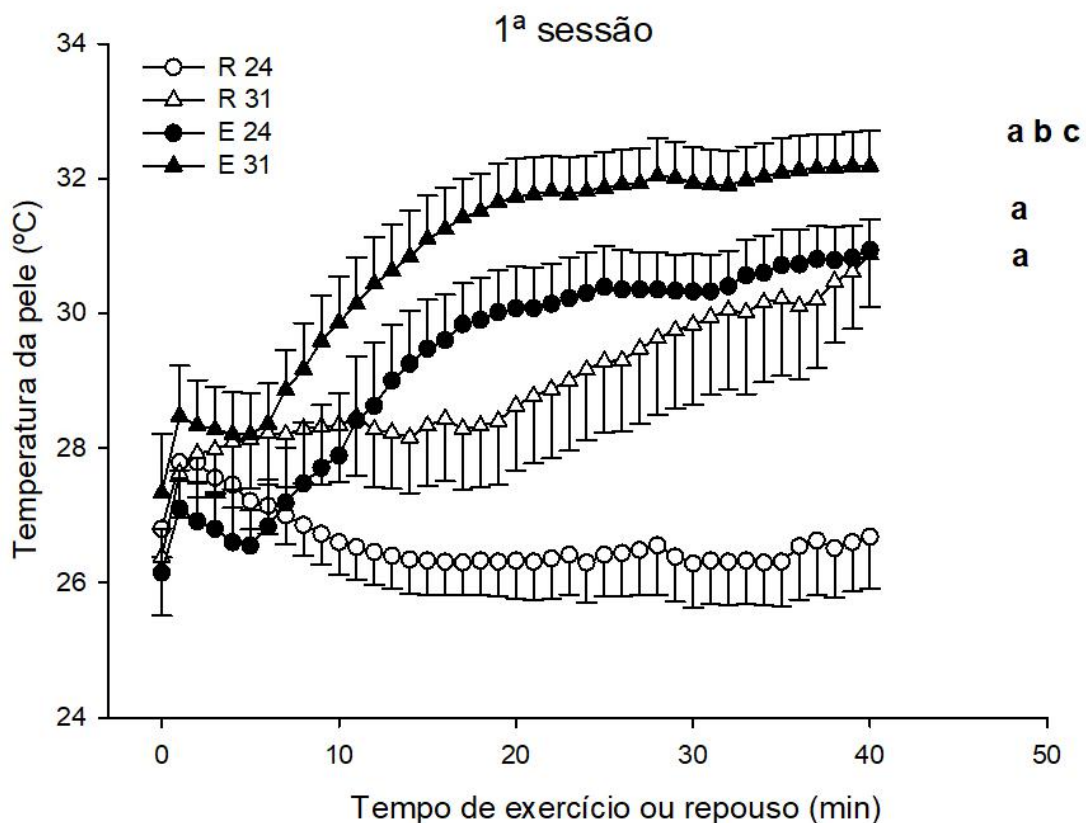
A  $T_{INT}$  medida na 1ª sessão foi maior nos grupos E (efeito principal de tratamento;  $F = 169,728$ ;  $p < 0,001$ ) e nos grupos expostos a 31 °C (efeito principal de ambiente;  $F = 188,206$ ;  $p < 0,001$ ), e aumentou ao longo da duração da sessão (efeito principal de tempo;  $F = 22,878$ ;  $p < 0,001$ ). Houve interação entre ambiente e tratamento ( $F = 78,020$ ;  $p < 0,001$ ), na qual foram identificadas as seguintes diferenças entre grupos: a  $T_{INT}$  do grupo E 31 foi maior que as temperaturas do grupo R 31 ( $p = 0,004$ ) e E 24 ( $p < 0,001$ ). Além disso, a  $T_{INT}$  do grupo E 24 foi maior do que aquela do grupo R 24 ( $p < 0,001$ ) e a  $T_{INT}$  do grupo R 31 foi maior do que aquela do grupo R 24 ( $p < 0,001$ ). Não foram identificadas interações entre os fatores tempo e ambiente ( $F = 0,997$ ;  $p = 0,478$ ), tempo e tratamento ( $F = 1,302$ ;  $p = 0,101$ ) e nem interação tripla ( $F = 0,101$ ;  $p = 1,000$ ; figura 5).



**Figura 5** - Temperatura da pele de ratos durante a primeira sessão de intervenção. R 24 = repouso a 24 °C; R 31 = repouso a 31 °C; E 24 = exercício a 24 °C; E 31 = exercício a 31 °C. a -  $p < 0,05$  vs. grupo R 24. b -  $p < 0,05$  vs. grupo R 31. c -  $p < 0,05$  vs. E 24.



A  $T_{PELE}$  foi maior nos grupos E (efeito principal de tratamento;  $F = 441,340$ ;  $p < 0,001$ ) e nos grupos expostos a 31 °C (efeito principal de ambiente;  $F = 317,884$ ;  $p < 0,001$ ), e aumentou ao longo do tempo de intervenção (efeito principal de tempo;  $F = 6,439$ ;  $p < 0,001$ ). Foram identificadas interações entre tempo e tratamento ( $F = 3,598$ ;  $p < 0,001$ ) e entre ambiente e tratamento ( $F = 12,429$ ;  $p < 0,001$ ), nas quais foram identificadas as seguintes diferenças entre grupos: o grupo E 31 apresentou maiores aumentos de  $T_{PELE}$  ( $\approx 1$  °C mais alta) do que os grupos E 24 ( $p < 0,001$ ), R 31 ( $p < 0,001$ ) e R 24 ( $p < 0,001$ ), enquanto os grupos E 24 e R 31 apresentaram valores de  $T_{PELE}$  maiores que o grupo R 24. Entretanto, não foram identificadas interações entre tempo e ambiente ( $F = 0,741$ ;  $p = 0,882$ ) e nem interação tripla ( $F = 0,815$ ;  $p = 0,788$ ; ANOVA three-way; figura 6). As alterações observadas na  $T_{PELE}$  indicam que a resposta da dissipação cutânea de calor obtida foi dependente do tipo de intervenção a que o grupo foi submetido, sendo que as intervenções envolvendo exercício físico (E 31 e E 24) proporcionaram maior desafio termorregulatório e promoveram maiores aumentos na  $T_{PELE}$ .



**Figura 6** - Temperatura da pele de ratos durante a primeira sessão de intervenção. R 24 = repouso a 24 °C; R 31 = repouso a 31 °C; E 24 = exercício a 24 °C; E 31 = exercício a 31 °C. a -  $p < 0,05$  vs. grupo R 24. b -  $p < 0,05$  vs. grupo R 31. c -  $p < 0,05$  vs. grupo E 24.

### 3.4 Décima sessão de aclimação

#### 3.4.1 Variáveis de controle e fisiológicas

A  $T_{INT}$  inicial não foi influenciada pelo tratamento e nem pelo ambiente e também não foram observadas interações significativas entre esses dois fatores (tabela 8). De forma inesperada, a  $T_{PELE}$  inicial foi maior nos grupos mantidos em repouso do que nos grupos exercitados (efeito principal de tratamento); não foi observado efeito principal de ambiente e nem interação entre os dois fatores para a  $T_{PELE}$  inicial. A  $T_{INT}$  final e a variação da  $T_{INT}$  foram maiores nos grupos E em relação aos grupos R (efeito principal de tratamento) e maiores a 31 °C do que a 24 °C (efeito principal de ambiente); não houve interação entre os dois fatores para a  $T_{INT}$  e a  $\Delta T_{INT}$ . A  $T_{PELE}$  final foi maior nos grupos exercitados (efeito principal de tratamento) e nos grupos expostos a 31 °C (efeito principal de ambiente) e ainda houve interação entre os dois fatores. A  $T_{PELE}$  final dos ratos dos grupos R 31, E 24 e E 31 foi maior que a temperatura do grupo R 24.

Conforme planejado no nosso delineamento experimental, a distância percorrida foi maior nos grupos exercitados (efeito principal de tratamento,  $p < 0,001$ ), menor nos grupos expostos a 31 °C (efeito principal de ambiente,  $p < 0,001$ ) e não houve interação entre os dois fatores, ou seja, as distâncias percorridas pelos grupos E foi superior àquelas percorridas pelos grupos R. A razão  $\Delta T_{INT} / \text{distância}$  percorrida foi calculada apenas para os grupos exercitados, através de um teste  $t$  de Student, que identificou maiores valores para o grupo E 31 ( $4,23 \pm 0,43$  °C/km) em comparação ao grupo E 24 ( $2,41 \pm 0,14$  °C/km;  $p = 0,002$ ) na décima sessão de aclimação, indicando que o grupo E 31 apresentou menor eficiência termorregulatória e acumulou 75,5% mais calor que o grupo E 24 para cada quilômetro percorrido. As  $T_{AMB}$  inicial e final foram diferentes entre os ambientes experimentais adotados (efeito principal de ambiente). No entanto, não foram observados efeito principal de tratamento e nem interação entre os dois fatores para a  $T_{AMB}$  inicial (tabela 8). Em relação à  $T_{AMB}$  final, foi observado que os ratos se exercitaram a uma maior temperatura que os ratos mantidos em repouso (efeito principal de tratamento), embora também não tenha sido observada interação entre os dois fatores.

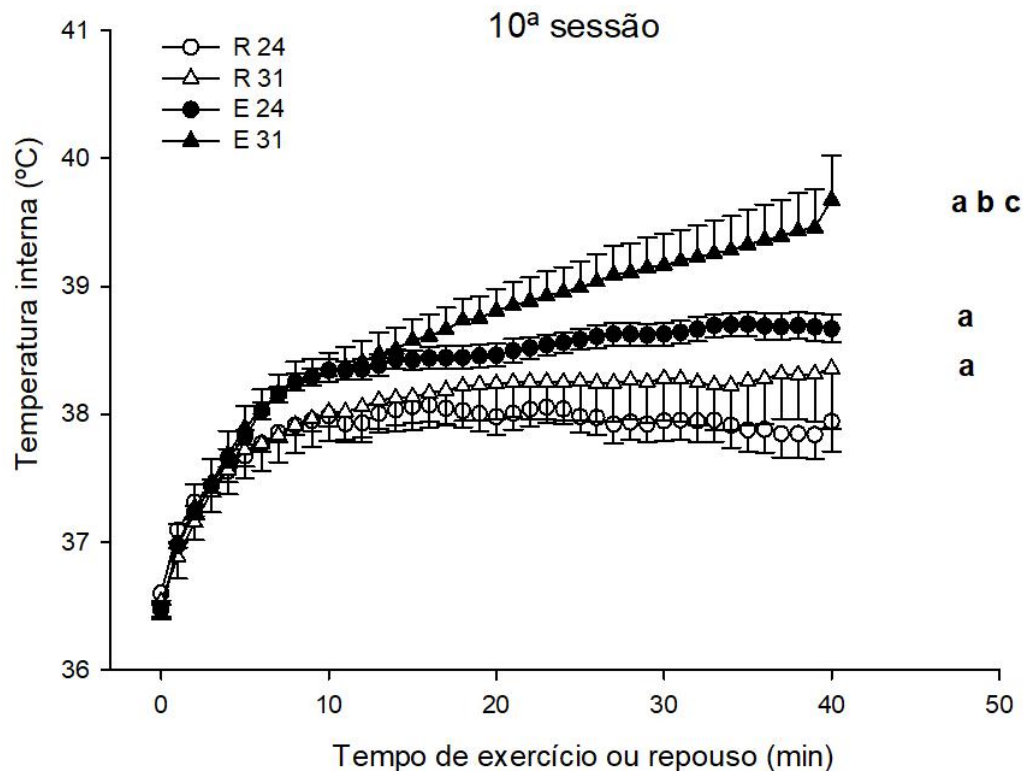
**Tabela 8** - Variáveis fisiológicas e de controle durante a décima sessão de aclimação

DÉCIMA SESSÃO DE ACLIMATAÇÃO							
Parâmetro	R 24	R 31	E 24	E 31	p 1	p 2	p 3
TINT inicial (°C)	36,60	36,54	36,47	36,43	0,193	0,567	0,899
EPM	0,08	0,12	0,08	0,08			
TINT final (°C)	37,94	38,36	38,67	39,68	0,003&	0,031 @	0,350
EPM	0,23	0,47	0,11	0,34			
Distância (m)	38	32	912	768	<0,001&	<0,001@	<0,001
EPM	0	0	0	0			
Δ TINT (°C)	1,34	1,82	2,20	3,25	<0,001&	0,016 @	0,345
EPM	0,24	0,43	0,13	0,33			
TPELE inicial (°C)	26,44	28,50	25,55	26,22	0,029&	0,057	0,322
EPM	0,75	0,78	0,61	0,61			
TPELE final (°C)	26,71	32,09 a	30,65 a	32,64 ac	0,001	<0,001	0,011
EPM	0,63	0,68	0,62	0,53			
TAMB inicial (°C)	23,21	31,12	23,62	31,11	0,261	<0,001 @	0,235
EPM	0,22	0,14	0,14	0,17			
TAMB final (°C)	23,87	31,56	24,29	31,75	0,005&	<0,001@	0,196
EPM	0,11	0,10	0,04	0,11			

Variáveis analisadas por meio de uma ANOVA two-way. **p** 1 = valor de **p** referente ao tratamento; **p** 2 = valor de **p** referente ao ambiente em que foram realizados os tratamentos; **p** 3 = valor de **p** referente à interação. a - **p** <0,05 vs. grupo R 24. c - **p** <0,05 vs. grupo E 24. & efeito principal de tratamento (**p** < 0,05). @ efeito principal de ambiente (**p** < 0,05).

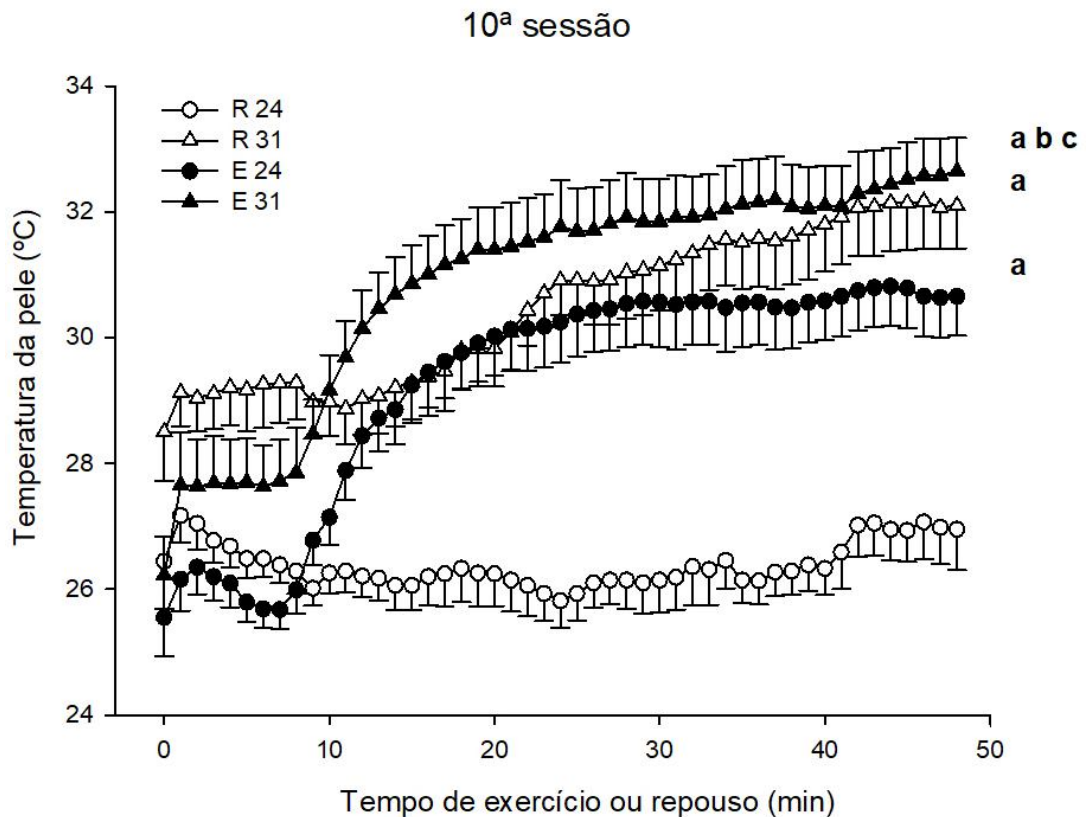
### 3.4.2 Curvas de cinética das temperaturas corporais durante a 10ª sessão de aclimatação

Na 10ª sessão de intervenção, a  $T_{INT}$  dos grupos E foi maior que a observada nos grupos R (efeito principal de tratamento;  $F = 428,826$ ;  $p < 0,001$ ), assim como a  $T_{INT}$  dos grupos 31 °C foi maior que a  $T_{INT}$  dos grupos 24 °C (efeito principal de ambiente;  $F = 112,471$ ;  $p < 0,001$ ). Além disso, a  $T_{INT}$  aumentou ao longo da 10ª sessão de intervenção (efeito principal de tempo;  $F = 18,383$ ;  $p < 0,001$ ). Houve interação entre tempo e ambiente ( $F = 1,441$ ;  $p = 0,027$ ), tempo e tratamento ( $F = 2,583$ ;  $p < 0,001$ ) e ambiente e tratamento ( $F = 9,432$ ;  $p = 0,002$ ); nas quais foram identificadas as seguintes diferenças: a  $T_{INT}$  no grupo E 31 foi maior que a temperatura nos grupos R 31 ( $p < 0,001$ ) e E 24 ( $p < 0,001$ ); o grupo E 24 apresentou maior  $T_{INT}$  que o grupo R 24 ( $p < 0,001$ ); e o grupo R 31 apresentou maior  $T_{INT}$  que o grupo R 24 ( $p < 0,001$ ). Entretanto não houve tripla interação ( $F = 0,163$ ;  $p = 1,000$ ). A  $T_{INT}$  parece ser semelhante entre grupos até aproximadamente o minuto 10, quando a  $T_{INT}$  do grupo E 31 continua elevando-se de forma marcante, diferenciando-se dos demais grupos. Enquanto isso, a  $T_{INT}$  dos outros três grupos estabilizou por volta dos 15 – 20 min em valores que são mantidos até o fim da intervenção; vale destacar que os valores em que a  $T_{INT}$  atinge um platô são mais elevados nos grupos E 24 e R 31 em relação ao grupo R 24 (figura 7).



**Figura 7-** Temperatura interna de ratos durante a última sessão de intervenção. R 24 = repouso a 24 °C; R 31 = repouso a 31 °C; E 24 = exercício a 24 °C; E 31 = exercício a 31 °C. a -  $p < 0,001$  vs. grupo R 24. b -  $p < 0,001$  vs. grupo R 31. c -  $p < 0,001$  vs. grupo E 24.

A  $T_{PELE}$  na 10ª sessão de intervenção foi maior nos grupos E (efeito principal de tratamento;  $F = 357,133$ ;  $p < 0,001$ ) e nos grupos expostos a 31 °C (efeito principal de ambiente;  $F = 1087,608$ ;  $p < 0,001$ ). A  $T_{INT}$  também aumentou ao longo da sessão de intervenção (efeito de tempo;  $F = 14,465$ ;  $p < 0,001$ ). Foram identificadas interações entre tempo e tratamento ( $F = 5,453$ ;  $p < 0,001$ ) e entre ambiente x tratamento ( $F = 222,981$ ;  $p < 0,001$ ), nas quais foram identificadas as seguintes diferenças: a  $T_{PELE}$  no grupo E 31 foi maior que nos grupos R 31 ( $p < 0,001$ ) e E 24 ( $p < 0,001$ ), enquanto a  $T_{PELE}$  foi maior nos grupos E 24 e R 31 do que no grupo R 24 ( $p = 0,005$  e  $p < 0,001$ , respectivamente). Não houve interação entre tempo e ambiente ( $F = 1,029$ ;  $p = 0,419$ ) ou tripla interação ( $F = 1,084$ ;  $p = 0,324$ ; figura 8).



**Figura 8** - Temperatura da pele de ratos durante a última sessão de intervenção. R 24 = repouso a 24 °C; R 31 = repouso a 31 °C; E 24 = exercício a 24 °C; E 31 = exercício a 31 °C. **a** -  $p \leq 0,005$  vs. grupo R 24. **b** -  $p < 0,001$  vs. grupo R 31. **c** -  $p < 0,001$  vs. grupo E 24.

### 3.5 Progressivo a 31 °C pós-intervenção

#### 3.5.1 Variáveis de controle durante o exercício progressivo pós-intervenção

Ao fim das sessões de intervenção, os ratos foram submetidos novamente a um exercício progressivo no calor até a fadiga. A massa corporal dos ratos não foi diferente entre os grupos experimentais ( $F = 2,217$ ;  $p = 0,110$ ). Além disso, a  $T_{AMB}$  inicial ( $F = 1,421$ ;  $p = 0,259$ ) e a  $T_{AMB}$  na fadiga não foram diferentes entre grupos no momento pós-intervenção ( $F = 2,247$ ;  $p = 0,107$ ; tabela 9), indicando que as condições térmicas para a execução do exercício foram semelhantes entre os ratos que foram submetidos a diferentes intervenções. A distância percorrida pelos grupos E 31 e E 24 foi maior que a distância percorrida pelos grupos R 24 e R 31 (efeito de grupo; tabela 9), mas os grupos mantidos em repouso e os grupos exercitados não foram diferentes entre si.

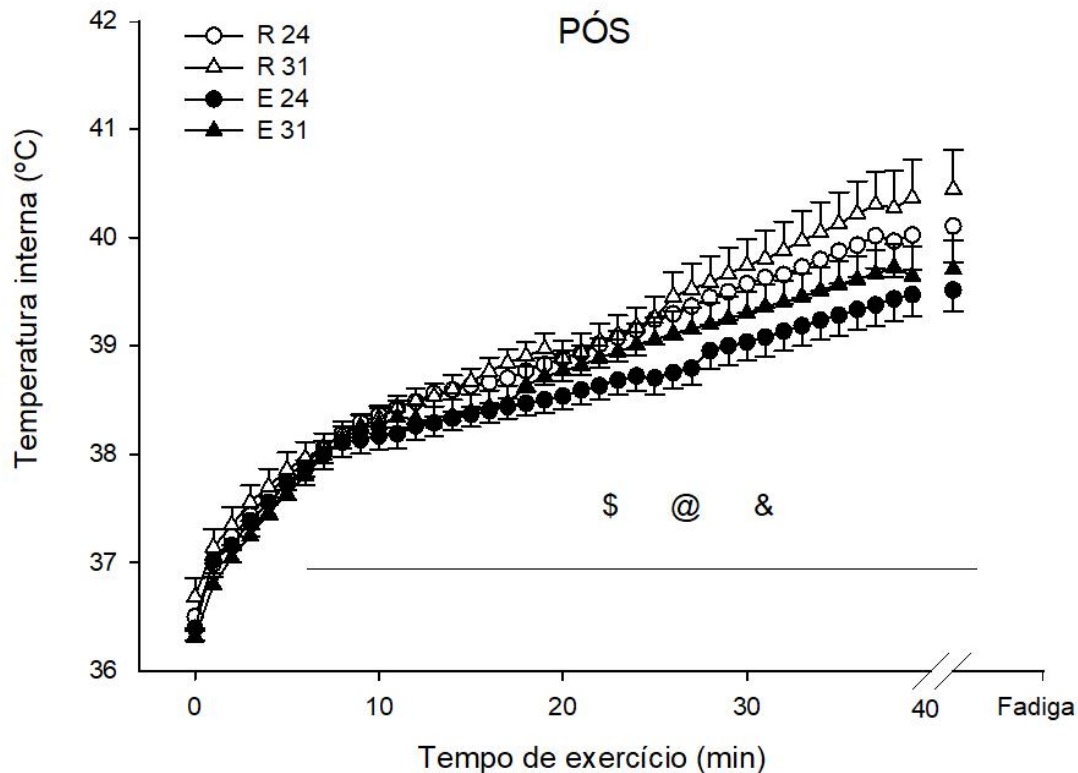
**Tabela 9** - Variáveis de controle de ratos submetidos ao exercício progressivo a 31 °C após as intervenções

PROGRESSIVO 31 °C PÓS						
Parâmetro	R 24	R 31	E 24	E 31	F	<i>p</i>
<b>Massa corporal (g)</b>	333	306	289	312	2,217	0,110
<b>EPM</b>	15	13	10	10		
<b>TAMB inicial (°C)</b>	31,24	31,72	31,34	31,53	1,421	0,259
<b>EPM</b>	0,22	0,19	0,13	0,16		
<b>TAMB fadiga (°C)</b>	31,91	31,49	31,55	31,44	2,247	0,107
<b>EPM</b>	0,13	0,18	0,10	0,15		
<b>Distância percorrida (m)</b>	972,5	925,5	1582,3 <sup>ab</sup>	1533,9 <sup>ab</sup>	10,750	<0,001
	112,3	89,2	99,7	121,6		

Variáveis analisadas por meio de ANOVAs one-way. EPM = erro padrão da média, TAMB = temperatura ambiente. **a** -  $p < 0,001$  vs. grupo R 24. **b** -  $p < 0,001$  vs. grupo R 31.

### 3.5.2 Curvas de cinética das temperaturas corporais durante o exercício progressivo pós-intervenção

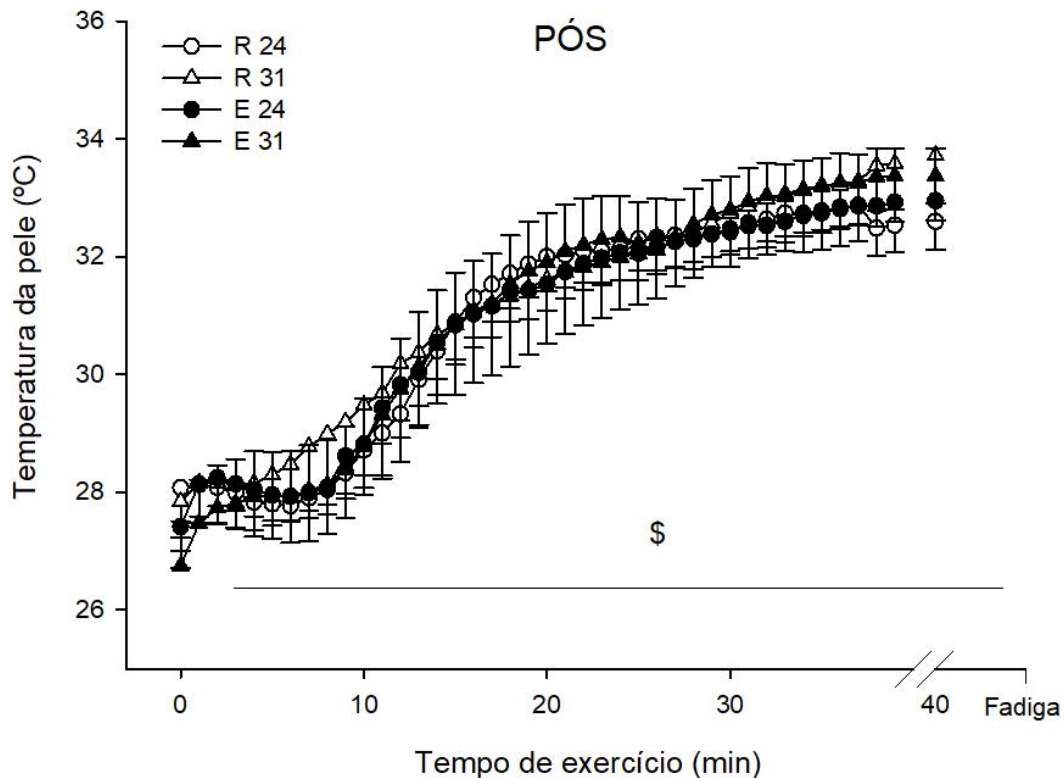
A  $T_{INT}$  foi menor nos grupos E pós-intervenção quando comparados com os grupos R (efeito principal de tratamento;  $F = 126,061$ ;  $p < 0,001$ ) e, além disso, os grupos expostos a 31 °C apresentaram maior  $T_{INT}$  que os grupos 24 °C (efeito principal de ambiente;  $F = 21,665$ ;  $p < 0,001$ ). Conforme esperado, a  $T_{INT}$  aumentou ao longo do exercício progressivo (efeito principal de tempo;  $F = 99,111$ ;  $p < 0,001$ ). Não foram identificadas interações entre tempo e ambiente ( $F = 0,368$ ;  $p = 1,000$ ), entre tempo e tratamento ( $F = 1,122$ ;  $p = 0,278$ ) nem entre ambiente e tratamento ( $F = 0,0978$ ;  $p = 0,755$ ), tampouco houve tripla interação ( $F = 0,193$ ;  $p = 1,000$ ; figura 9).



**Figura 9** - Temperatura interna de ratos submetidos ao exercício progressivo a 31 °C pós-intervenção. R 24 = repouso a 24 °C; R 31 = repouso a 31 °C; E 24 = exercício a 24 °C; E 31 = exercício a 31 °C. \$ Efeito principal de tempo ( $p < 0,001$ ); @ Efeito principal de ambiente ( $p < 0,001$ ); & Efeito principal de tratamento ( $p < 0,001$ ; ANOVA three-way).

A  $T_{PELE}$  no momento pós-intervenção não foi diferente entre os grupos submetidos às intervenções a 31 °C vs. 24°C (efeito principal de ambiente,  $F = 2,424$ ;  $p = 0,120$ ) e nem entre os grupos exercitados ou mantidos em repouso (efeito principal de tratamento,  $F = 0,371$ ;  $p = 0,543$ ). No entanto, a  $T_{PELE}$  foi diferente ao longo do tempo de exercício ( $F = 30,898$ ;  $p < 0,001$ ), tendo aumentado de forma marcante a partir de 5 – 10 min de corrida. Não foram identificadas interações entre tempo e ambiente ( $F = 0,116$ ;  $p = 1,000$ ), entre tempo e tratamento ( $F = 0,0784$ ;  $p = 1,000$ ), entre ambiente e tratamento ( $F = 0,139$ ;  $p = 0,709$ ), nem foi identificada a tripla interação ( $F = 0,128$ ;  $p = 1,000$ ). A resposta da  $T_{PELE}$ , durante estresse térmico imposto pelo exercício progressivo no calor até a fadiga, não foi modificada pelas intervenções adotadas (figura 10).



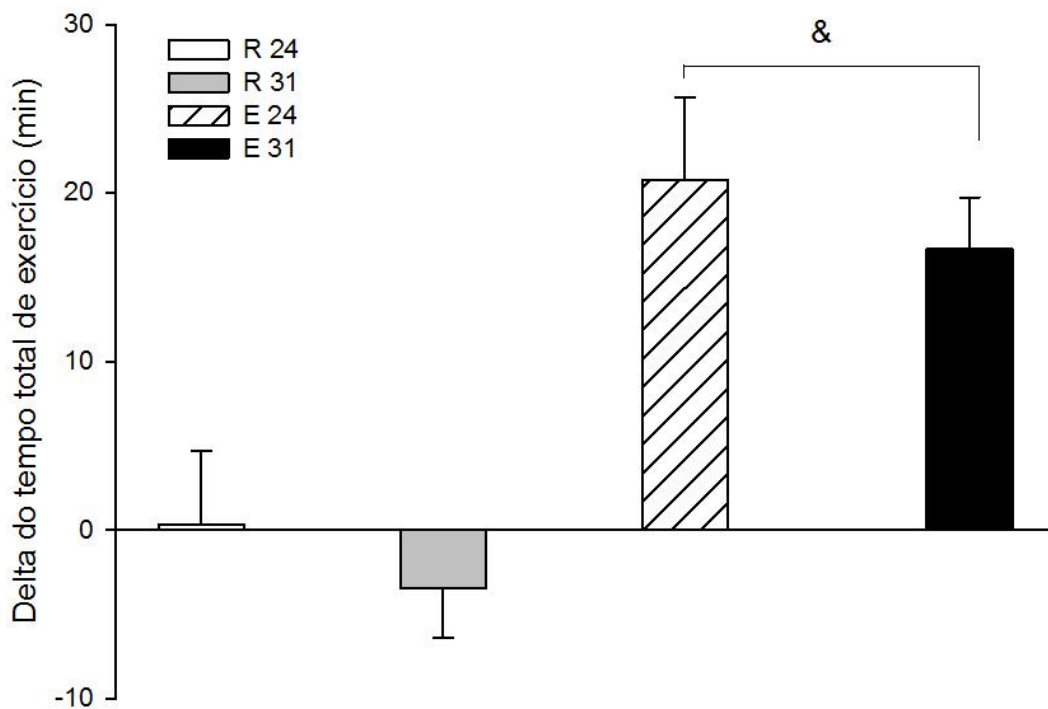


**Figura 10** - Temperatura da pele de ratos submetidos ao exercício progressivo a 31 °C após as intervenções. R 24 = repouso a 24 °C; R 31 = repouso a 31 °C; E 24 = exercício a 24 °C; E 31 = exercício a 31 °C. \$ Efeito principal de tempo de exercício ( $p < 0,001$ ; ANOVA three-way).

### 3.5.3 Tempo total de exercício

Para avaliação do desempenho aeróbico dos ratos, foi medido o TTE durante o exercício progressivo a 31 °C. Para facilitar a interpretação dos dados, nós calculamos a diferença entre o desempenho pré- e pós-intervenção ( $\Delta$  TTE = TTE pós – TTE pré) para cada um dos quatro grupos experimentais. Estes dados foram analisados por meio de uma ANOVA two-way, sendo que os seguintes fatores de variação foram avaliados: os ambientes onde os tratamentos foram realizados (24 °C vs. 31 °C) e os tratamentos (exercício crônico vs. repouso; Figura 11). Este procedimento de cálculo das diferenças de TTE entre pós- e pré-intervenção foi realizado também para todos os parâmetros termorregulatórios avaliados neste estudo; os valores positivos nas figuras indicam aumento do valor induzido pela intervenção, enquanto valores negativos indicam redução induzida pela intervenção.

A análise da variação do TTE mostrou efeito principal de tratamento ( $F = 29,908$ ;  $p < 0,001$ ), mas não mostrou efeito principal de ambiente ( $F = 1,115$ ;  $p = 0,301$ ) e nem foi identificada interação entre os fatores ambiente e tratamento ( $F = 0,001$ ;  $p = 0,966$ ). Portanto, os grupos E apresentaram maiores aumentos do TTE quando comparados aos grupos R ( $p < 0,001$ ; figura 11), independente das condições ambientais.

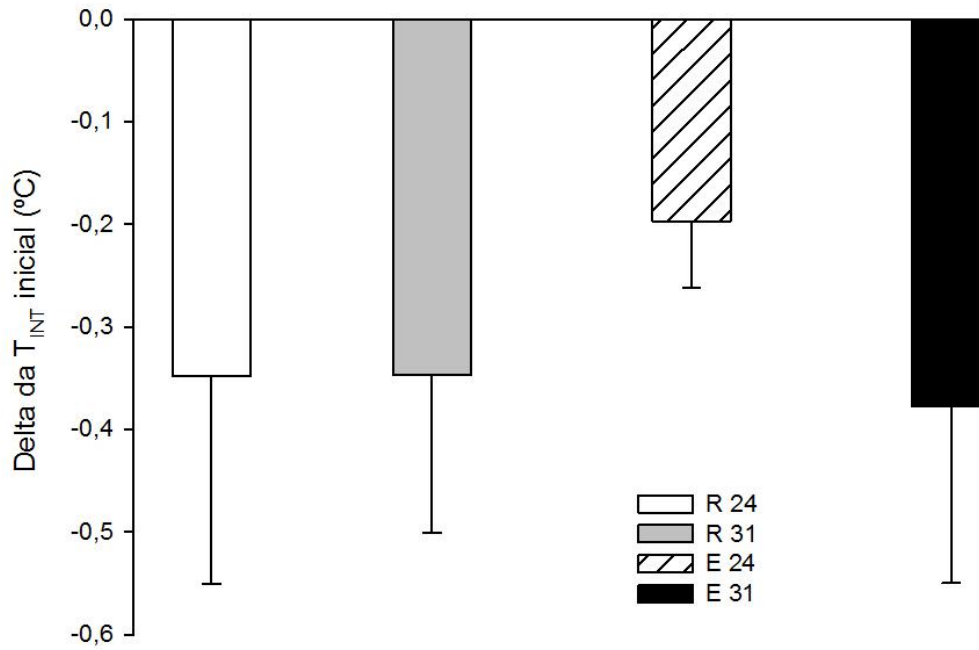


**Figura 11** - Diferença entre os momentos pré- e pós-intervenções no TTE medido durante exercícios progressivos a 31 °C até a fadiga. R 24 = repouso a 24 °C; R 31 = repouso a 31 °C; E 24 = exercício a 24 °C; E 31 = exercício a 31 °C. & Efeito principal de tratamento ( $p < 0,001$ ).

#### 3.5.4 Temperatura interna inicial (°C)

A  $T_{INT}$  inicial no exercício progressivo no calor não foi influenciada pelo ambiente (efeito principal de ambiente;  $F = 0,390$ ;  $p = 0,538$ ) nem pelo tratamento (efeito principal de tratamento;  $F = 0,175$ ;  $p = 0,679$ ) utilizados nas intervenções. Não foram identificadas interações entre ambiente e tratamento ( $F = 0,396$ ;  $p = 0,535$ ; figura 12). Estes resultados significam que a  $T_{INT}$  inicial não foi influenciada pelas 2 semanas de exercício crônico, pela exposição ao ambiente quente e nem pela associação de ambos os estímulos. Vale destacar a redução desses valores pós-intervenção em todos os grupos, conforme indicado pelos valores negativos

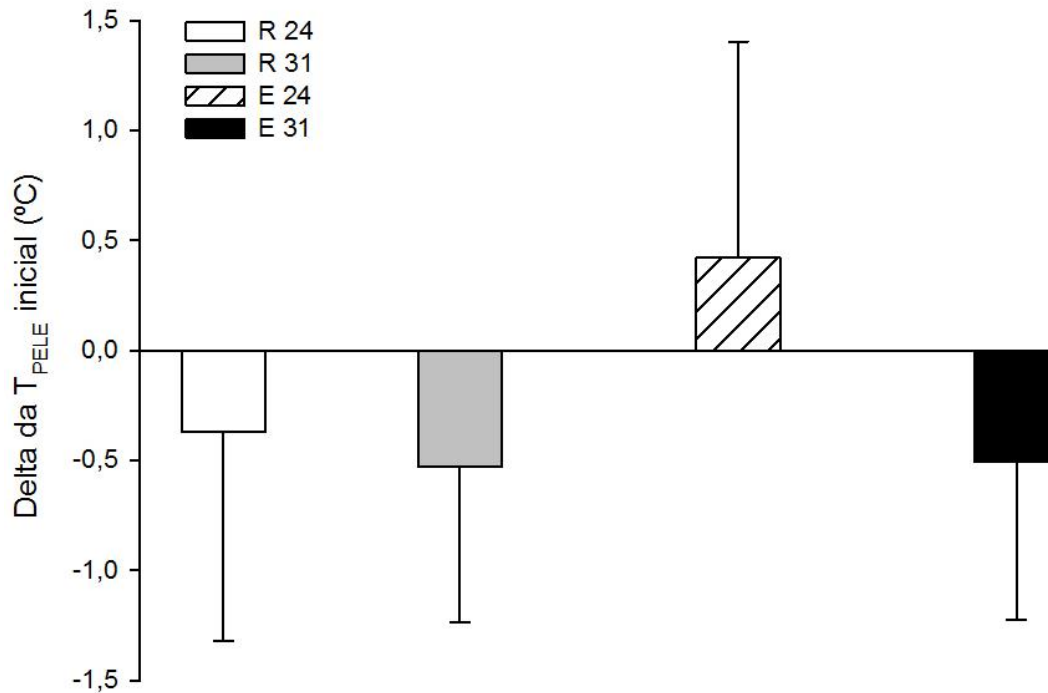
(figura 12), o que pode estar associado à redução do estresse de manipulação para inserção do sensor no cólon e fixação do termopar na cauda, procedimentos realizados antes de colocar o rato na esteira.



**Figura 12** - Diferença entre os momentos pré- e pós-intervenções na temperatura interna medida no início do exercício progressivo a 31 °C até a fadiga. R 24 = repouso a 24 °C; R 31 = repouso a 31 °C; E 24 = exercício a 24 °C; E 31 = exercício a 31 °C (ANOVA two-way).

### 3.5.5 Temperatura da pele inicial (°C)

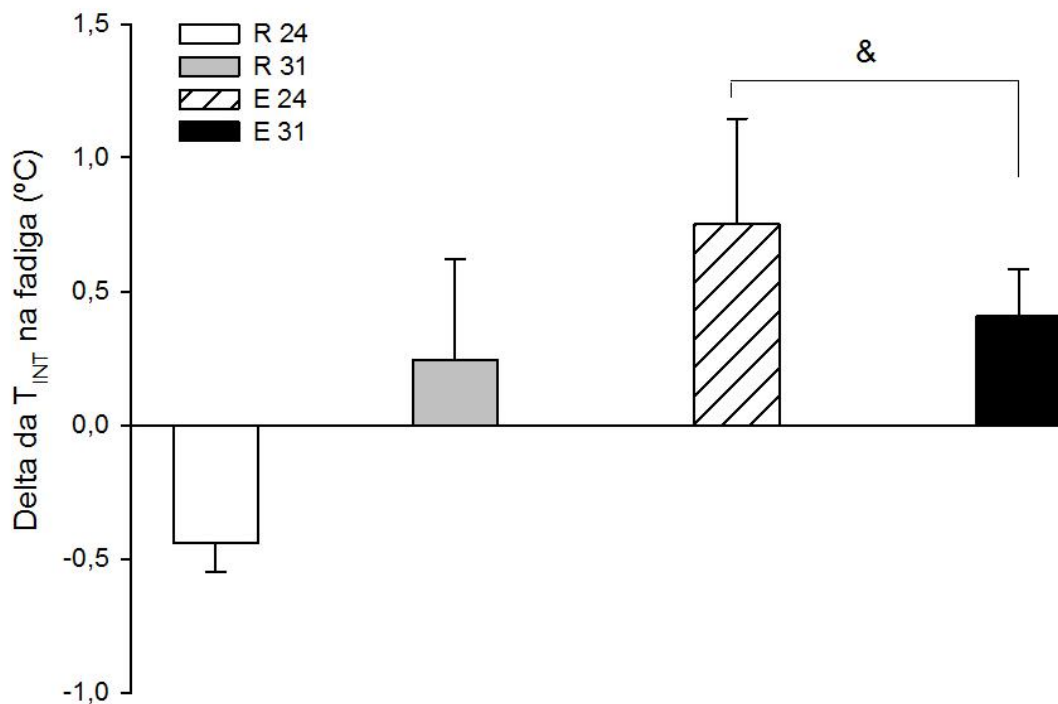
A  $T_{PELE}$  inicial não foi influenciada pelo ambiente (efeito principal de ambiente;  $F = 0,467$ ;  $p = 0,501$ ) ou tratamento (efeito principal de tratamento;  $F = 0,265$ ;  $p = 0,611$ ) que foram utilizados nas intervenções. Não foi identificada interação entre ambiente e tratamento ( $F = 0,234$ ;  $p = 0,633$ ; figura 13). Estes resultados significam que a  $T_{PELE}$  inicial não foi influenciada pelas 2 semanas de exercício crônico, pela exposição ao ambiente quente e nem pela associação de ambos os estímulos.



**Figura 13** - Diferença entre os momentos pré- e pós-intervenções na temperatura da pele medida no início do exercício progressivo a 31 °C até a fadiga. R 24 = repouso a 24 °C; R 31 = repouso a 31 °C; E 24 = exercício a 24 °C; E 31 = exercício a 31 °C (ANOVA two-way)

### 3.5.6 Temperatura interna na fadiga (°C)

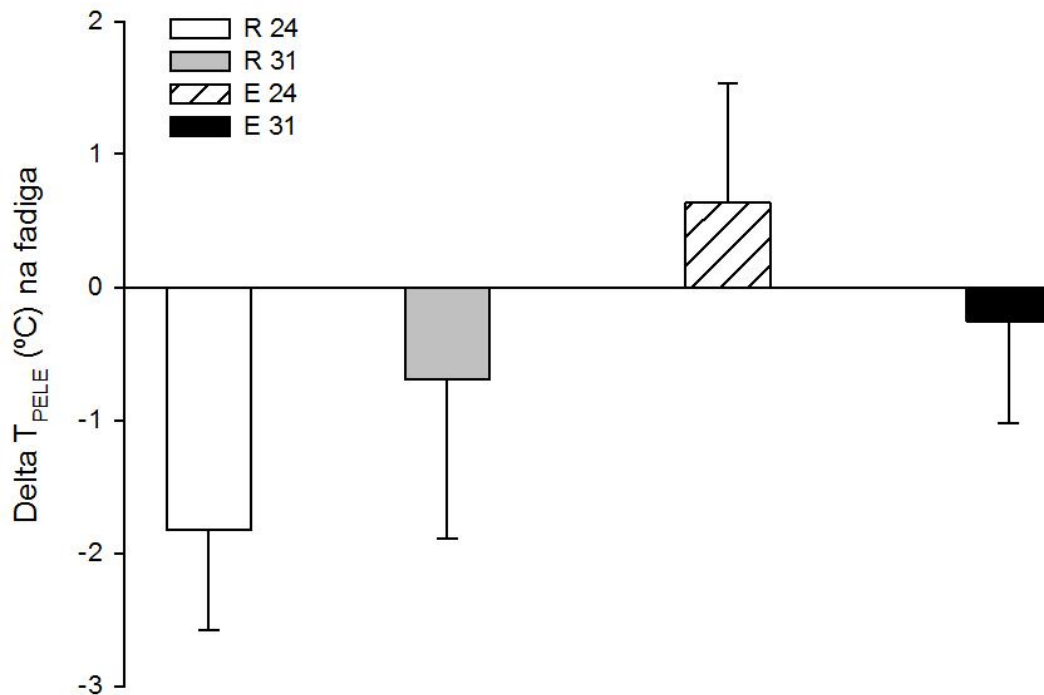
Os grupos E apresentaram maiores valores de  $T_{INT}$  na fadiga, quando comparados aos grupos R (efeito principal de tratamento;  $F = 6,085$ ;  $p = 0,021$ ), mas os valores  $T_{INT}$  na fadiga não diferiram entre os ambientes de intervenção (efeito principal de ambiente;  $F = 0,377$ ;  $p = 0,544$ ). Não houve interação entre os fatores ambiente e tratamento ( $F = 3,511$ ;  $p = 0,072$ ; figura 14). Estes resultados indicam que a diferença entre os momentos pós- e pré-intervenção nos valores de  $T_{INT}$  atingidos na fadiga nos grupos E pode ser possivelmente, atribuída a maior produção de calor metabólico durante o exercício, visto que esses grupos também apresentaram aumento de aproximadamente 20 min no TTE durante o exercício em questão (figura 11).



**Figura 14** - Diferença entre os momentos pré- e pós-intervenções na temperatura interna atingida na fadiga durante o exercício progressivo a 31 °C. R 24 = repouso a 24 °C; R 31 = repouso a 31 °C; E 24 = exercício a 24 °C; E 31 = exercício a 31 °C. & Efeito principal de tratamento ( $p = 0,021$ ). \* diferente do grupo R 24 ( $p = 0,005$ ).

### 3.5.7 Temperatura da pele na fadiga (°C)

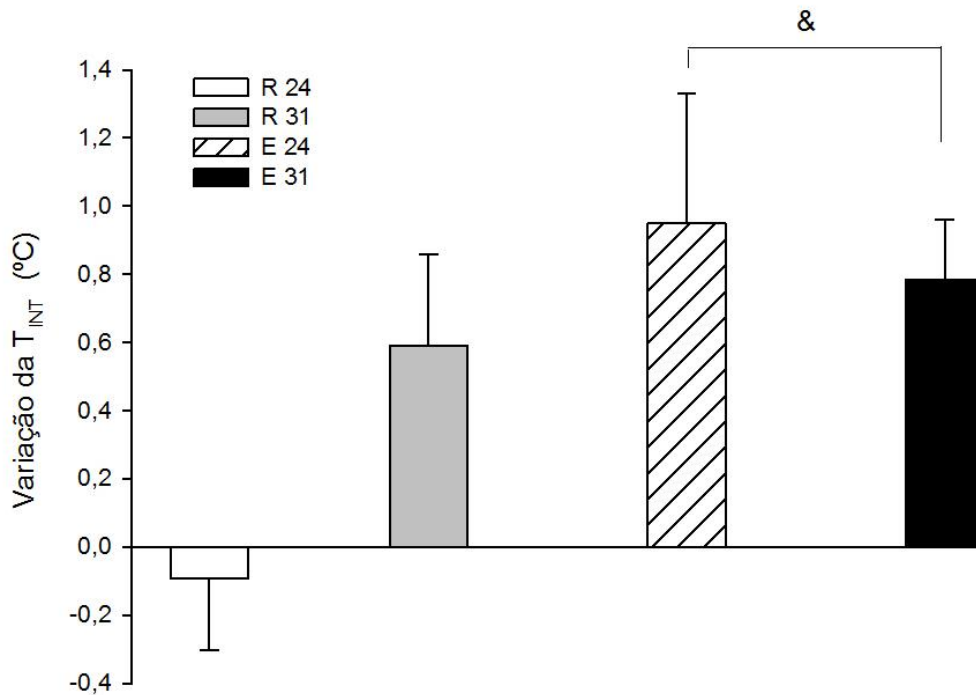
A  $T_{PELE}$  final não foi diferente entre as temperaturas ambientes da intervenção (efeito principal de ambiente;  $F = 0,377$ ;  $p = 0,885$ ) e entre os grupos R e E (efeito principal de tratamento;  $F = 6,085$ ;  $p = 0,100$ ); não houve interação entre os fatores ambiente e tratamento ( $F = 1,430$ ;  $p = 0,243$ ; figura 15). Esses resultados significam que as variações na  $T_{PELE}$  final parecem não ser influenciadas pelo exercício crônico e nem pela exposição ao ambiente quente.



**Figura 15** - Diferença entre os momentos pré- e pós-intervenção na temperatura da pele atingida na fadiga durante o exercício progressivo a 31 °C. R 24 = repouso a 24 °C; R 31 = repouso a 31 °C; E 24 = exercício a 24 °C; E 31 = exercício a 31 °C.

### 3.5.8 Variação da temperatura interna ( $\Delta$ °C)

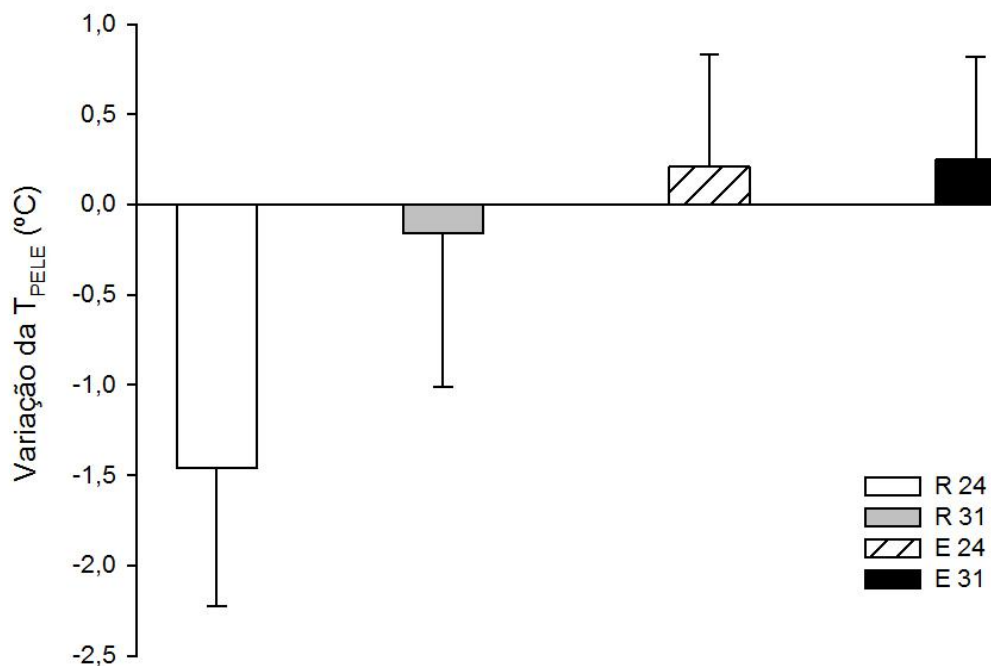
Ao se comparar os momentos pré- e pós-intervenção, a variação de  $T_{INT}$  foi maior nos grupos E quando comparados aos grupos R (efeito de tratamento;  $F = 5,012$ ;  $p = 0,034$ ), independente do ambiente em que o exercício foi realizado; a variação da  $T_{INT}$  não diferiu entre os ambientes de intervenção utilizados (efeito de ambiente;  $F = 0,878$ ;  $p = 0,357$ ) e não foi identificada interação entre os fatores ambiente e tratamento ( $F = 2,366$ ;  $p = 0,136$ ; figura 16). Os valores positivos observados nos grupos E indicam que a variação da  $T_{INT}$  no momento pós-intervenção foi maior em relação ao momento pré-intervenção, o que provavelmente resultou do maior tempo de exercício nesses grupos (figura 11 – TTE).



**Figura 16** - Diferença entre os momentos pré- e pós-intervenções na variação da temperatura interna ( $\Delta^{\circ}\text{C}$ ) durante o exercício progressivo a 31  $^{\circ}\text{C}$  até a fadiga. R 24 = repouso a 24  $^{\circ}\text{C}$ ; R 31 = repouso a 31  $^{\circ}\text{C}$ ; E 24 = exercício a 24  $^{\circ}\text{C}$ ; E 31 = exercício a 31  $^{\circ}\text{C}$ . & Efeito principal de tratamento ( $p = 0,034$ ).

### 3.5.9 Variação da temperatura da pele ( $\Delta^{\circ}\text{C}$ )

Ao se comparar os momentos pré- e pós-intervenção, a variação de  $T_{\text{PELE}}$  não diferiu entre os tratamentos R e E (efeito principal de tratamento;  $F = 2,214$ ;  $p = 0,149$ ) ou ambientes de intervenção utilizados (efeito principal de ambiente;  $F = 0,914$ ;  $p = 0,348$ ) e não houve interação entre os fatores ambiente e tratamento ( $F = 0,814$ ;  $p = 0,375$ ; figura 17), indicando que o exercício crônico e a exposição ao ambiente quente não influenciaram a variação da  $T_{\text{PELE}}$  (figura 17).

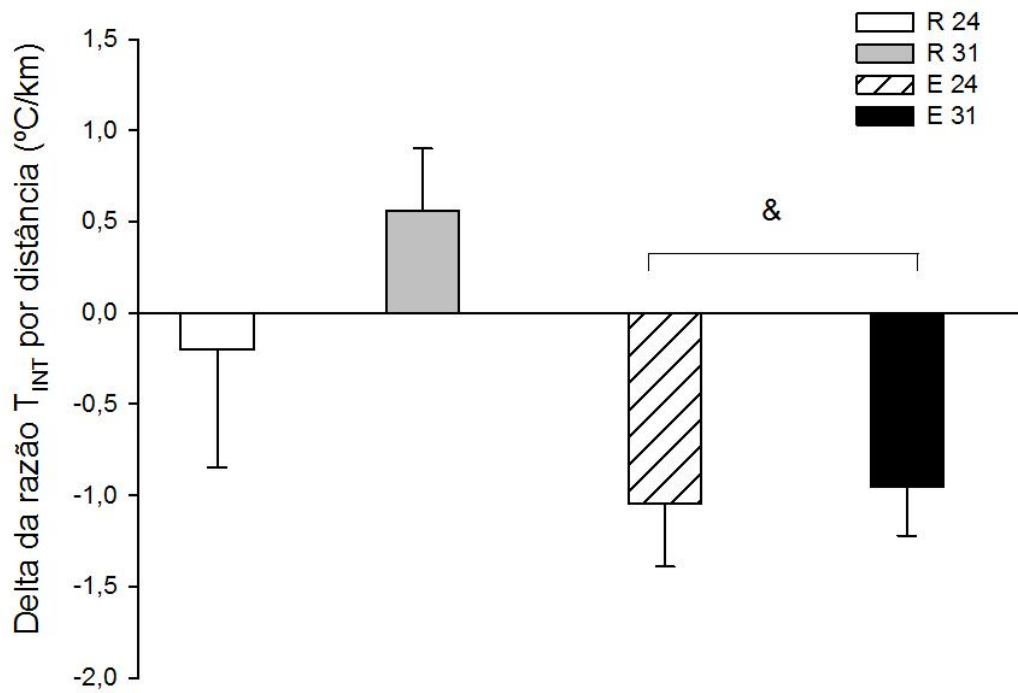


**Figura 17** - Diferença entre os momentos pré- e pós-intervenções na variação da temperatura da pele ( $\Delta^{\circ}\text{C}$ ) durante o exercício progressivo a 31 °C até a fadiga. R 24 = repouso a 24 °C; R 31 = repouso a 31 °C; E 24 = exercício a 24 °C; E 31 = exercício a 31 °C.

### 3.5.10 Razão variação da temperatura interna a cada quilômetro percorrido

O delta da razão entre a variação da  $T_{\text{INT}}$  e a distância percorrida ( $\Delta T_{\text{INT}} / \text{km}$  pós –  $\Delta T_{\text{INT}} / \text{km}$  pré-intervenção) foi menor nos grupos E (efeito principal de tratamento;  $F = 8,161$ ;  $p = 0,008$ ), mas não foi diferente entre ambientes (efeito principal de ambiente;  $F = 1,068$ ;  $p = 0,311$ ); além disso, não foi identificada interação entre ambiente e tratamento ( $F = 0,661$ ;  $p = 0,424$ ; figura 18). Isso significa que a redução da  $T_{\text{INT}}$  a cada quilômetro nos grupos E após a intervenção, contribuiu para que esses animais percorressem maiores distâncias e apresentassem maiores TTEs que os grupos R, o que demonstra uma melhora considerável na eficiência termorregulatória durante o exercício, mesmo frente a um desafio termorregulatório mais duradouro e mais intenso.





**Figura 18** - Diferença entre os momentos pré- e pós-intervenções na razão  $\Delta T_{INT} / km$  durante o exercício progressivo a 31  $^{\circ}C$  até a fadiga. R 24 = repouso a 24  $^{\circ}C$ ; R 31 = repouso a 31  $^{\circ}C$ ; E 24 = exercício a 24  $^{\circ}C$ ; E 31 = exercício a 31  $^{\circ}C$ .

## 4 DISCUSSÃO

Os protocolos de intervenção utilizados, caracterizados por três diferentes estímulos - R 31 (exposição passiva ao calor), E 24 (exercício) e E 31 (exposição ao calor e exercício) - promoveram respostas termorregulatórias distintas entre os grupos (figura 4), sendo observadas respostas fisiológicas esperadas e não esperadas durante um exercício subsequente realizado no calor e até a fadiga. Dentre as respostas esperadas, observamos nos grupos E o aumento do tempo total de exercício; o aumento da  $T_{INT}$  na fadiga; a redução da razão  $\Delta T_{INT} / km$  e, em todos os grupos, a redução da  $T_{INT}$  inicial. No entanto, como respostas inesperadas, observamos que a  $T_{PELE}$  inicial, final e o  $\Delta T_{PELE}$  não foram diferentes entre os tratamentos e que também não houve somação das alterações induzidas pelo exercício crônico e pela exposição ao ambiente quente.

O TTE aumentou apenas nos grupos E 31 e E 24 após a intervenção, indicando que o desempenho aeróbico foi influenciado pela realização de exercício crônico, mas não pela exposição ao ambiente quente. Como a  $T_{INT}$  sempre aumentou mais em todas as sessões a E 31 em comparação com as sessões a E 24, podemos sugerir que o ganho no desempenho aeróbico foi independente da  $T_{INT}$  alcançada durante as sessões de aclimatação. A adaptação ao calor, conforme descrita por Taylor (2014), é alcançada quando ocorre a exposição a um estresse com duração e frequência suficiente para desencadear uma resposta fisiológica adaptativa correspondente, assim, pressupõe-se a existência de um limiar de estímulo que deve ser atingido para a adaptação. Além disso, a adaptação ao calor está relacionada tanto à redução da carga térmica, quanto ao aumento da tolerância ao exercício aeróbico no calor ou em ambiente temperado, como apontam os autores Nielsen *et al.* (1993) e Lorenzo *et al.* (2010). De uma perspectiva térmica, o estresse é imposto pelo aumento da produção de calor (exercício físico) e/ou pela modificação da eficiência das vias de troca de calor com o ambiente (condução, convecção, evaporação, radiação; Taylor, 2014). Neste estudo, observamos que os grupos R 31 e E 24 apresentaram valores de  $T_{INT}$  semelhantes ao longo das sessões de exercício, embora apenas o grupo E 24 tenha apresentado aumento do TTE no momento pós-intervenção. Por outro lado, o grupo E 31 apresentou  $T_{INT}$  mais alta quanto comparada à  $T_{INT}$  do grupo E 24 e esses grupos apresentaram

ganhos de TTE semelhantes, o que indica que o estímulo adaptativo para o aumento do desempenho deve estar mais relacionado às alterações fisiológicas (metabólicas, cardiovasculares, ventilatórias, neurais, etc.) promovidas pelo exercício, e não necessariamente aos valores de  $T_{INT}$  atingidos e sustentados ao longo do protocolo de intervenção. Uma evidência disso é o aumento da eficiência termorregulatória observada nos grupos E pós- intervenção, representada pela redução da razão  $\Delta T_{INT}$  ( $^{\circ}\text{C}$ ) / km (figura 18), que permitiu aos ratos exercitados manter o exercício por mais tempo ( $\approx 20$  min) do que os grupos R e do que seu próprio valor de TTE no momento pré-intervenção.

A atenuação da elevação da  $T_{INT}$  para cada quilômetro percorrido pós- aclimatação foi observada nos grupos E 31 e E 24, mesmo com o aumento da distância total percorrida durante os exercícios progressivos. Esses resultados sugerem uma melhora na eficiência termorregulatória que poderia ser decorrente de dois fatores principais: aumento da dissipação cutânea de calor e/ou o aumento da eficiência mecânica durante a corrida. Durante a aclimatação, a  $T_{PELE}$  foi determinada pelo ambiente e não pelo tratamento adotado, os grupos expostos a  $31^{\circ}\text{C}$  apresentaram maiores valores de  $T_{PELE}$  que os grupos expostos a  $24^{\circ}\text{C}$ . No exercício constante utilizado ao longo das sessões de aclimatação, pudemos observar que a variação de temperatura ( $\Delta T_{INT} = T_{INT} 10^{\text{a}} \text{ sessão} - T_{INT} 1^{\text{a}} \text{ sessão}$ ) do grupo E 31 apresentou maiores reduções do que as reduções observadas no grupo E 24 (E 31 = 0,74; E 24 = 0,27). Ademais, o grupo E 31 apresentou maiores valores de  $T_{PELE}$  que os demais grupos, o que em conjunto contribuiu para que o grupo E 31 apresentasse  $T_{INT}$  semelhante ao grupo E 24 durante a  $10^{\text{a}}$  sessão de aclimatação. A redução da  $T_{INT}$  no grupo E 31, durante as sessões de aclimatação, indica uma menor produção de calor metabólico (a  $T_{PELE}$  não foi diferente entre grupos) para a mesma duração e intensidade relativa de exercício na  $10^{\text{a}}$  sessão, o que permitiu a esse grupo desempenhar o exercício, sob estresse térmico, com mesma duração e com  $T_{INT}$  semelhante àquelas do grupo exercitado em ambiente temperado (E 24). Entretanto, ao avaliarmos a  $T_{PELE}$  durante o exercício progressivo até a fadiga pós- intervenção, não observamos aumentos na dissipação cutânea de calor nem diferenças na  $T_{PELE}$  entre grupos, o que indica que as intervenções adotadas não foram capazes de promover adaptações na dissipação cutânea de calor (figuras 10 e 17).

A vasodilatação cutânea, avaliada pelo aumento da  $T_{PELE}$ , é indicada como o principal mecanismo de perda de calor do rato durante o exercício em ambiente quente. A vasodilatação cutânea é responsável por  $\approx 20\%$  da perda de calor metabólico durante a exposição passiva ao ambiente quente (JOHANSEN, 1962). Thompson e Stevenson (1964) demonstraram que o aumento da  $T_{INT}$  ( $\approx 39,5$  °C) parece ser o valor de limiar para desencadear a ativação da vasodilatação cutânea. Outros autores verificaram que a  $T_{PELE}$  parece responder proporcionalmente aos aumentos da  $T_{INT}$  (YOUNG & DAWSON, 1982 - exposição passiva ao calor) também durante o exercício em ambiente temperado (WANNER *et al.*, 2015). Todavia, mesmo com a redução da  $T_{INT}$  inicial e a atenuação do aumento da razão  $\Delta T_{INT} / \text{km}$  percorrido, a  $T_{PELE}$  inicial e final não se alterou pós-intervenção (figuras 10 e 17), o que sugere que outros mecanismos, tais como o aumento da eficiência mecânica e da evaporação de líquidos a partir do trato respiratório possam estar envolvidos na melhora do desempenho aeróbico durante exercício progressivo até a fadiga no calor.

Embora não tenha sido avaliada nesse estudo, é possível que aumentos na perda evaporativa de calor, principalmente a partir do trato respiratório, possam ter contribuído para a redução do acúmulo de calor metabólico durante o exercício. Conforme apresentado por Gordon (1990), quando a  $T_{AMB}$  está abaixo da zona termoneutra do rato, onde a condutância térmica é mínima, a perda de calor evaporativa representa de 5 a 15% da perda total de calor do animal (GORDON, 1990). Santiago *et al.* (2016) observaram diminuição da razão entre o calor acumulado e o trabalho realizado nos ratos treinados aerobicamente em esteira quando comparados a ratos sedentários, sendo que a redução desta razão se deu em consequência do aumento da dissipação de calor pela cauda para a mesma carga relativa (a 20% do trabalho total realizado, os ratos treinados apresentaram maior  $T_{PELE}$  do que os ratos sedentários). Além disso, o deslocamento do limiar para a dissipação de calor para menores valores de  $T_{INT}$  nos ratos treinados também indica facilitação desta troca de calor com o ambiente. Por outro lado, Teixeira-Coelho *et al.* (2017) verificaram em ratos treinados aerobicamente, o aumento da eficiência mecânica, avaliada a partir do custo energético da corrida para um exercício progressivo realizado pós-intervenção independente do método de progressão de carga utilizado (progressão predominante na intensidade ou na duração ou progressão alternada em ambas); todavia, os autores não avaliaram a

$T_{PELE}$  nesse experimento. No nosso estudo, não identificamos a modificação na perda de calor mediada pela vasodilatação cutânea induzida pelo exercício crônico em ambiente quente. Assim, consideramos que a atenuação do aumento da  $T_{INT}$  associada ao aumento da distância percorrida parece refletir a melhora da eficiência mecânica de corrida dos ratos após o treinamento.

Foi observada redução na  $T_{INT}$  inicial em todos os grupos após a aclimação, independente das intervenções adotadas, o que indica que essa redução pode estar relacionada à redução da resposta ao estresse. Kunstetter *et al.* (2017) indicaram que apenas a colocação do animal na esteira é suficiente para aumentar a  $T_{INT}$  dos ratos em  $\approx 1$  °C, mesmo sem a realização de exercício. Por outro lado, Melia *et al.* (1994) avaliaram a resposta ao estresse (expressão de c-fos) na habituação a um protocolo de contenção através de exposições repetidas, e identificaram que a exposição crônica (4 e 9 dias) ao estresse de contenção promoveu a redução da resposta ao estresse após 4 dias de exposição e quase inexistência da mesma após 9 dias de exposição, ou seja, pouca ou nenhuma resposta fisiológica ao estímulo estressor foi observada. Kodesh *et al.* (2011 - ratos), assim como Terblanche e Nel (1998 - ratos), não identificaram modificações na  $T_{INT}$  inicial / repouso entre os grupos expostos ao exercício ou calor, de forma somada ou isolada. Por outro lado, Santiago *et al.* (2016) observaram redução da  $T_{INT}$  de ratos em repouso após o treinamento aeróbico (redução de aproximadamente 0,4 °C). No nosso estudo, observamos redução da resposta ao estresse imposto por cada intervenção, principalmente nos grupos R 31, E 24 e E 31, em que a  $T_{INT}$  inicial reduziu ao longo das sessões de aclimação e no exercício progressivo no calor no momento pós-intervenção, o que indica que tanto o calor quanto o exercício físico, realizados de forma crônica, promoveram uma redução da resposta ao estresse. Cabe ressaltar que, no presente estudo, foram utilizados um sensor retal e um termopar, ambos afixados a cauda do animal, o que por si só gera desconforto no animal, diferente daquele observado por Kunstetter *et al.* (2017) que utilizaram sensor abdominal (interno), sugerindo que as repetidas sessões na esteira não foram suficientes para reduzir o estresse gerado pela colocação dos sensores nos ratos R 24.

Ratos e humanos apresentam valores basais de  $T_{INT}$  (36 – 37 °C) e da pele (30 - 33 °C) semelhantes, quando mantidos em ambiente termoneutro (GORDON, 1993). A maior área de superfície corporal (cerca de 5 vezes maior em

humanos do que em ratos) e a maior quantidade de glândulas sudoríparas fazem com que a evaporação seja o principal mecanismo de dissipação de calor em humanos. No caso dos ratos, a vasodilatação da cauda é o principal mecanismo de dissipação de calor, sendo que a perda por meio desta via corresponde a 40% da taxa metabólica basal (YOUNG & DAWSON, 1982). Durante a corrida em esteira rolante, a perda evaporativa em roedores é muito limitada, pois este mecanismo depende do comportamento de espalhar saliva sobre o pelo (GORDON, 2012), o que o rato não consegue fazer enquanto está correndo (GORDON, 1993). Situação semelhante ocorre em condições quando a perda evaporativa de calor em humanos é limitada durante o exercício, como, por exemplo, quando o exercício é realizado ambiente quente e úmido (umidade relativa do ar superior a 60%), o que geralmente representa uma condição de estresse térmico não compensável (CHEUNG; MCLELLAN; TENAGLIA, 2000). Apesar das diferenças encontradas no processo de aclimação em seres humanos e ratos, a exposição contínua ao calor em ratos (simulando a aclimatização natural) promove respostas termorregulatórias semelhantes às aquelas observadas após a aclimação com exercício no calor em humanos (SAREH *et al.*, 2011; KUENNEN, 2011). No presente estudo, adotamos uma exposição curta com a mesma duração que as sessões de intervenção, envolvendo exercício para a comparação da resposta termorregulatória decorrente da exposição ao ambiente quente ou pelo exercício crônico separadamente. É importante destacar que 40 a 48 min de repouso no calor, durante 10 sessões de intervenção, não foram suficientes para aclimatar os ratos ao calor. Apesar de a elevação da  $T_{INT}$  ser apontada como uma dos sinalizadores para a aclimação ao calor, esta resposta não se mostrou como determinante para as adaptações observadas no presente estudo. O aumento do desempenho e a atenuação do estresse térmico gerado pelo exercício no calor nos grupos E (não foi observado para R 31) indicam que o exercício físico crônico, independente do ambiente em que foi realizado, foi eficiente em promover aclimação ao calor nos animais.

## 5 CONCLUSÃO

Das três estratégias de aclimação ao calor investigadas E31, E24 e R31, as estratégias envolvendo o exercício aeróbico crônico, independente do ambiente em que o mesmo foi realizado, promoveram aumento da eficiência termorregulatória e do desempenho aeróbico, além de maior tolerância a valores elevados de temperatura interna em ratos submetidos subsequentemente a um exercício progressivo no calor até a fadiga em ambiente quente.

O grupo R 31, apesar de promover elevações de  $T_{INT}$  semelhantes às elevações observadas no grupo E 24, não apresentou melhora na eficiência termorregulatória nem no desempenho aeróbico durante o exercício progressivo no calor até a fadiga em ambiente quente.

O aumento da carga térmica promovido pelo calor somado ao exercício (E 31) não promoveu melhora adicional na termorregulação ou no desempenho aeróbico dos ratos. Por fim, a elevação de temperatura apenas não foi suficiente para promover adaptações na termorregulação ou no desempenho, o que indica que as adaptações observadas são decorrentes do exercício aeróbico, independente da temperatura ambiente em que a intervenção foi realizada.

## 6 REFERÊNCIAS

- ACSM - American College of Sports Medicine. Armstrong, L. E. *et al.* American College of Sports Medicine position stand. Exertional heat illness during training and competition. **Med Sci Sports Exerc.**, v. 39, n. 3, p. 556 – 72, 2007.
- ARMSTRONG, R. G. *et al.* Heart rate variability and baroreceptor sensitivity following exercise-induced hyperthermia in endurance trained men. **Eur J Appl Physiol.**, v. 112, p. 501 – 511, 2012.
- BALTHAZAR, C. H. *et al.* Effects of blockade of central dopamine D1 and D2 receptors on thermoregulation, metabolic rate and running performance. **Pharmacological Reports**, v. 62, p. 54 - 61, 2010.
- BARR, D.; REILLY, T.; GREGSON, W. The impact of different cooling modalities on the physiological responses in firefighters during strenuous work performed in high environmental temperatures. **Eur J Appl Physiol.**, v. 111, p. 959 – 967, 2011.
- CARTER, R. III *et al.* Epidemiology of hospitalizations and deaths from heat illness in soldiers. **Med Sci Sports Exerc.**, v. 37, p. 1338 - 1344, 2005.
- CHALMERS, S. *et al.* Short-term heat acclimation training improves physical performance-physiological adaptations and application for team sports: A Systematic Review, and Exploration of Physiological Adaptations and Application for Team Sports. **Sports Med.**, v. 44, p. 971-988, 2014.
- CHEUNG, S. S., and G. G. SLEIVERT. Multiple triggers for hyperthermic fatigue and exhaustion. **Exerc. Sport Sci. Rev.**, v. 32, n. 3, p. 100 - 106, 2004.
- CHEUNG, S. S.; MCLELLAN, T. M. Heat acclimation, aerobic fitness, and hydration effects on tolerance during uncompensable heat stress. **J. Appl. Physiol.**, v. 84, n. 5, p.1731 - 1739, 1998.
- CHEUNG, S. S.; MCLELLAN, T. M.; TENAGLIA, S. The thermophysiology of uncompensable heat stress: physiological, manipulations and individual characteristics. **Sports Med.**, v. 29, p. 329- 359, 2000.
- CHEUNG, S. S.; PETERSEN, S. R.; MCLELLAN, T. M. Physiological strain and countermeasures with firefighting. **Scand J Med Sci Sports**, v. 20, Suppl. 3, p. 103 - 116, 2010.
- CHEUVRONT, S. N. & HAYMES, E.M. Thermoregulation and marathon running: biological and environmental influences. **Sports Med.**,v. 31, p. 743, 2001.
- CHEUVRONT, S. N. *et al.* Mechanisms of aerobic performance impairment with heat stress and dehydration. **J Appl Physiol.**, v. 109, p. 1989 - 1995, 2010.



COHEN, J.S.; GISOLFI, C.V. Effects of interval training on work-heat tolerance of young women. **Med Sci Sports Exerc.** v. 14, n. 1, p. 46 - 52, 1982.

COIMBRA, C. C.; SOARES, D. D.; LEITE, L. H. R. The Involvement of Brain Monoamines in the Onset of Hyperthermic Central Fatigue, in: **An international perspective on topics in sports medicine and sports injury**, p. 275 - 306, 2012.

DRUMMOND *et al.* 2016. Brain Temperature in Spontaneously Hypertensive Rats during Physical Exercise in Temperate and Warm Environments. **PLoS One**, v. 11, n. 5, 2016.

FEBBRAIO, M. Alterations in Energy Metabolism During Exercise and Heat Stress. **Sports Med.**, v. 31, n. 1, p. 47 - 59, 2001.

FLOURIS, A. D. *et al.* Changes in heart rate variability during the induction and decay of heat acclimation. **Eur. J. Appl. Physiol.**, v. 114, p. 2119-2128, 2014.

FOX, R. H. *et al.* Blood flow and other thermoregulatory changes with acclimation to heat. **J. Physiol.**, v. 166, p. 548 - 562, 1963.

GARRETT, A. T. *et al.* Effectiveness of short-term heat acclimation for highly trained athletes. **Eur. J Appl. Phys.**, v. 112, p. 1827-1837, 2012.

GONZALEZ-ALONSO, J. *et al.* Influence of body temperature on the development of fatigue during prolonged exercise in the heat. **J Appl Physiol.**, v. 86, p. 1032 - 1039, 1999.

GORDON, C. J. Relationship between autonomic and behavioral thermoregulation in the mouse. **Physiol. Behav.**, v. 34, n. 5, p. 687 - 690, 1985.

GORDON, C. J. **Temperature regulation in laboratory rodents.** Cambridge, United Kingdom, Cambridge University Press, 1993.

GORDON, C. J. The mouse: an "average" homeotherm. **J. Therm. Bio.**, v. 37, p. 286-290, 2012.

GORDON, C. J. Thermal biology of the laboratory rat. **Physiol. Behav.**, v. 47, n. 5, p. 963 - 991, 1990.

GREENLEAF, J. E. Lack of artificial acclimatization to heat in physically fit subjects. **Nature**, v. 203, p. 1072, 1964.

HOLLOSZY, J.; BOOTH, F. W. Biochemical adaptations to endurance exercise in muscle. **Annu. Rev. Physiol.**, v. 38, p. 273 - 291, 1976.

HOROWITZ, M.; MEIRI, U. Thermoregulatory activity in the rat: effects of hypohydration, hypovolemia and hypertonicity and their interaction with short-term heat acclimation. **Comp. Biochem. Physiol.**, v. 82, n. 3, p. 577 - 582, 1985.

HOROWITZ, M.; PEYSER, Y. M.; MUHLRAD, A. Alterations in cardiac myosin isoenzymes distribution as an adaptation to chronic environmental heat stress in the rat. **J Mol Cell Cardiol.** v. 18, n. 5, p. 511 - 5. 1986.

IUPS - The Commission For Thermal Physiology Of The International Union Of Physiological Sciences. Glossary of terms for thermal physiology: third edition. **The Japan. J. Phys.**, v. 51, n. 2, p. 245-288, 2001.

JOHANSEN, K. Heat exchange through the muskrat tail: evidence for vasodilator nerves to the skin. **Acta physiol. scand.**, v. 55, p. 160 – 169, 1962.

JONES, A. M.; CARTER, H. The effect of endurance training on parameters of aerobic fitness. **Sports Med.** v. 29, n. 6, p. 373-386, 2000.

KELLY, M.*et al.* Short Duration Heat Acclimation in Australian Football Players. **Journal of Sports Science and Medicine**, v. 15, p. 118 - 125, 2016.

KODESH, E. *et al.* Heat acclimation and exercise training interact when combined in an overriding and tradeoff manner: physiologic-genomic linkage. **Am J Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.**, v. 301, p. R1786 - R1797, 2011.

KREGEL, K. C., *et al.* **Resource Book for the Design of Animal Exercise Protocols.** Bethesda (USA): American Physiological Society, 2006. 28, 2011.

KUENNEN, M. *et al.* Thermotolerance and heat acclimation may share a common mechanism in humans. **Am J Physiol. Regul. Integr. Comp Physiol.**, v. 301, p. R524 - R533, 2011.

KUIPERS, H. *et al.* Variability of aerobic performance in the laboratory and its physiologic correlates. **Int. J. Sports Med.**, v. 6, p. 197 - 201, 1985.

KUNSTETER, A. C. *et al.* Pre-exercise exposure to the treadmill setup changes the cardiovascular and thermoregulatory responses induced by subsequent treadmill running in rats. **Temperature**, 2017.

KUNSTETTER, A. C. *et al.* Association between the increase in brain temperature and physical performance at different exercise intensities and protocols in a temperate environment. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 47, n. 8, p. 679 - 688, 2014.

KUNSTETTER, A. C. **O aumento da temperatura cerebral induzido pelo exercício físico é exacerbado na ausência crônica dos canais trpv1 abdominais** (dissertação). 2013. 112f. Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional da Universidade Federal de Minas Gerais. 2013.

LORENZO, S. *et al.* Heat acclimation improves exercise performance. **J Appl Physiol.**, v. 109, p. 1140 - 1147, 2010.

MAGALHÃES, F. C. *et al.* Heat and exercise acclimation increases intracellular levels of Hsp72 and inhibits exercise-induced increase in intracellular and plasma Hsp72 in humans. **Cell Stress and Chaperones**, v. 15, p. 885-895, 2010.

MCLELLAN, T. M. The importance of aerobic fitness in determining tolerance to uncompensable heat stress. **Comp. Biochem. Phys. Part A**, v. 128, p. 691-700, 2001.

MELIA, K. R. *et al.* Induction and habituation of immediate early gene expression in rat brain by acute and repeated restraint stress. **The Journal of Neuroscience**, v. 14, n. 10, p. 5929 - 5938, 1994.

MOLE, P. A. *et al.* Enzymatic pathways of pyruvate metabolism in skeletal muscle: adaptations to exercise. **Am. J. Physiol.**, v. 224, p. 50 - 54, 1973.

MORA-RODRIGUEZ, R. Influence of aerobic fitness on thermoregulation during exercise in the heat. **Exerc Sport Sci.**, v. 40, p. 79 - 87, 2012.

NADEL, E. Mechanisms of thermal acclimation to exercise and heat. **J. App. Physiol.**, v. 37, p. 515 – 520, 1974.

NELSON, N. G. *et al.* Exertional heat related injuries treated in emergency departments in the U.S., 1997- 2006. **Am. J. Prev. Med.**, v. 40, p. 54 - 60, 2011.

NIELSEN, B. *et al.* Human circulatory and thermoregulatory adaptations with heat acclimation and exercise in a hot, dry environment. **Journal of Physiology**, n. 460, p. 467 – 485, 1993.

NIELSEN; B. Regulation of Body Temperature and Heat Dissipation at Different Levels of Energy- and Heat Production in Man. **Acta physiol. scand.**, v. 68, p. 215 – 227, 1966.

NOAKES, T. D. Fatigue is a brain-derived emotion that regulates the exercise behavior to ensure the protection of whole body homeostasis. **Frontiers in Physiology**, v. 3, n. 82, 2012.

NYBO, L.; NIELSEN, B. Hyperthermia and central fatigue during prolonged exercise in humans. **J. Appl. Physiol.**, v. 91, p. 1055-1060, 2001.

PATRONAS, P. *et al.* Differential stimulation of c-fos expression in hypothalamic nuclei of the rat brain during short-term heat acclimation and mild dehydration. **Brain Research**, v. 798, n. 1998, p. 127-139, 1998.

PÈRIARD, J. D.; CAILLAUD, C.; THOMPSON, M. W. The role of aerobic fitness and exercise intensity on endurance performance in uncompensable heat stress conditions. **Eur. J. Appl. Phys.**, v. 112, p. 1989-1999, 2012.

PÉRIARD, J. D.; RACINAIS, S.; SAWKA, M. N. Adaptations and mechanisms of human heat acclimation: Applications for competitive athletes and sports. **Scand. J. Med. Sci. Sports**, v. 25, n. 1, p. 20-38, 2015.

PRÍMOLA-GOMES, T. N. *et al.* Exercise capacity is related to calcium transients in ventricular cardiomyocytes. **J. Appl. Phys.**, v. 107, p. 593-598, 2009.

RABELO, P. C. R. *et al.* Intrinsic exercise capacity is related to differential monoaminergic activity in the rat forebrain. **Brain Research Bulletin**, v. 112, p. 7-13, 2015.

ROMANOVSKY, A. A.; CHRISTOPHER T. S.; VLADIMIR, A. K. “Biphasic” fevers often consist of more than two phases. **Am. J. Physiol. - Regulatory Integrative Comp. Physiol.**, v. 275, n. 44, p. R323–R331, 1998.

ROMANOVSKY, A. A.; SIMONS, C. T.; KULCHITSKY, V. A. “Biphasic” fevers often consist of more than two phases. **Am. J. Physiol. Regulatory Integrative Comp. Physiol.**, v. 275, n. 44, p. R323-R331, 1998.

SAMPAIO, I. B. M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. 3ª edição. Belo Horizonte: Fundação de Estudo e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 2007.

SANTIAGO, H. *et al.*, The improvement of exercise performance by physical training is related to increased hypothalamic neuronal. **Clinic. Experim. Pharmacol. Physiology**, v. 43, p.116-124, 2016.

SAREH, H. *et al.* Response of mice to continuous 5-day passive hyperthermia resembles human heat acclimation. **Cell S. Chaper.**, v. 16, p. 297-307, 2010.

SAWKA, M. N. *et al.* Integrated physiological mechanisms of exercise performance, adaptation, and maladaptation to heat stress. **Comp. Physiology**, v. 1, p. 1883-1928, 2011.

SELKIRK, G. A.; MCLELLAN, T. M. Influence of aerobic fitness and body fatness on tolerance to uncompensable heat stress. **J Appl Physiol.**, v. 91, p. 2055 – 2063, 2001.

SHAPIRO, Y. *et al.* Physiological and hematologic responses to summer and winter dry-heat acclimation. **J. App. Physiol.**, v. 50, p. 792 -798, 1981.

SUNDERLAND, C.; MORRIS, J. G.; NEVILL, M. E.A heat acclimation protocol for team sports. **Br J Sports Med.**, v. 42, p. 327 – 333, 2008.

TAYLOR, A. S. N. Principle and practices of heat adaptation. **Journal of the human-environmental System**, v. 4, n. 1, p. 11 - 22, 2000.

TAYLOR, N. A. S. Human Heat Adaptation. **Comp. Physiology**, v. 4, p. 325-365, 2014.

TEIXEIRA-COELHO, F. **Efeitos da intensidade e da duração das sessões de treinamento aeróbico sobre o desempenho e as respostas termorregulatórias induzidas pelo exercício físico e pela inflamação sistêmica.** 2016. 105f. Tese (doutorado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional.

TEIXEIRA-COELHO, F. *et al.* Effect of different types of aerobic training on physical performance and thermoregulatory responses in rats subjected to an incremental exercise in the heat. **Anais...**Sociedade Brasileira de Fisiologia - SBFIS, agosto de 2015.

TEIXEIRA-COELHO, F. F. *et al.* Effects of manipulating the duration and intensity of aerobic training sessions on the physical performance of rats. **PLoS ONE**, v. 12, n. 8, 2017.

TERBLANCHE, S. E.; NEL, W. Creatine kinase and creatine kinase isoenzyme responses to heat stress. **Cell Biology International**, v. 22, n. 5, p. 345 - 349, 1998.

THOMPSON, G. E.; STEVENSON, J. A. E. The temperature response of the male rat to treadmill exercise, and the effect of anterior hypothalamic lesions. **Can. J. Physiol. Pharmacol.**, v. 43, p. 279-287, 1964.

THORINGTON, R. W. **The biology of rodent tails: a study of form and function.** Fort Wainwright, AK: Arctic Aeromedical Laboratory. p. 149, 1966.

TOKIZAWA, K.; LIN, C. H.; NAGASHIMA, K. Mechanisms of heat acclimation and tolerance induced by exercise training and heat exposure. **J. Phys. Fitness Sports Med.**, v. 1, n. 2, p. 343-346, 2012.

TUCKER, R. *et al.* Impaired exercise performance in the heat is associated with an anticipatory reduction in skeletal muscle recruitment. **Eur J Physiol.**, v. 448, p. 422 – 430, 2004.

WANNER, S. P. *et al.* Muscarinic cholinceptors in the ventromedial hypothalamic nucleus facilitate tail heat loss during physical exercise. **Brain Res. Bulletin**, v.73, p. 28-33, 2007.

WANNER, S. P. *et al.* Thermoregulatory responses in exercising rats: methodological aspects and relevance to human physiology. **Temp.**, v.2, n. 4, p. 457-475, 2015.

WENDT, D.; VAN LOON, L.L.; LICHTENBELT, W. D. M. Thermoregulation during Exercise in the Heat Strategies for Maintaining Health and Performance. **Sports Med.**, v. 37, n. 8, 669 - 682, 2007.

YAMADA, P. M. *et al.* Effect of heat acclimation on heat shock protein 72 and interleukin-10 in humans. **J Appl Physiol.**, v. 103, p. 1196 - 1204, 2007.

YAMAZAKI, F. Effectiveness of Exercise-Heat Acclimation for Preventing Heat Illness in the Workplace. **J UOEH**, v. 35, n. 3, p. 183 - 192, 2013.

YOSHIDA, T.; SUDA, Y.; TAKEUCHI, N. Endurance training regimen based upon arterial blood lactate: effects on anaerobic threshold. **Eur J Appl Physiol.**, v. 49, p. 223 - 230, 1982.

YOUNG, A. A.; DAWSON, N. J. Evidence for on-off control of heat dissipation from the tail of the rat. **Can. J. Physiol. Pharmacol.**, v. 60, p. 392-398, 1982.

YOUNG, A. *et al.* Skeletal muscle metabolism during exercise is influenced by heat acclimation. **J. App. Physiol.**, v. 59, n. 6, p. 1929 - 1935, 1985.

ZOLADZ, J. A. *et al.* Endurance training increases the efficiency of rat skeletal muscle mitochondria. **Eur J Physiol.**, 2016.