

QUEZIA TEIXEIRA RODRIGUES

**EFEITO DO BLOQUEIO DOPAMINÉRGICO CENTRAL SOBRE A ATIVAÇÃO
NEURONAL HIPOTALÂMICA DURANTE O EXERCÍCIO FÍSICO**

Belo Horizonte

2017

QUEZIA TEIXEIRA RODRIGUES

**EFEITO DO BLOQUEIO DOPAMINÉRGICO CENTRAL SOBRE A ATIVAÇÃO
NEURONAL HIPOTALÂMICA DURANTE O EXERCÍCIO FÍSICO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Fisiologia e Farmacologia, do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas com área de concentração em Fisiologia.

Orientador: Prof. Dr. Cândido Celso Coimbra

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Laura Hora Rios
Leite

Belo Horizonte

2017

043 Rodrigues, Quezia Teixeira.

Efeito do bloqueio dopaminérgico central sobre a ativação neuronal hipotalâmica durante o exercício físico [manuscrito] / Quezia Teixeira Rodrigues. – 2017.

109 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientador: Prof. Dr. Cândido Celso Coimbra. Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Laura Hora Rios Leite.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas.

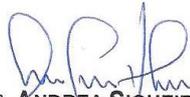
1. Fisiologia - Teses. 2. Dopamina - Teses. 3. Corpo - Temperatura - Regulação. 4. Fadiga - Teses. 5. Núcleo supraóptico. 6. Área pré-óptica. 7. Núcleos da Linha Média do Tálamo. I. Coimbra, Cândido Celso. II. Leite, Laura Hora Rios. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. IV. Título.

CDU: 612

**"EFEITO DO BLOQUEIO DOPAMINÉRGICO CENTRAL SOBRE A
ATIVÇÃO NEURONAL HIPOTALÂMICA
DURANTE O EXERCÍCIO FÍSICO"**

QUEZIA TEIXEIRA RODRIGUES

Dissertação de Mestrado defendida e aprovada, no dia 05 de maio de 2017, pela Banca Examinadora constituída pelos seguintes professores:



PROFA. DR.ª ANDREA SIQUEIRA HAIBARA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS



PROFA. DR.ª DANUSA DIAS SOARES
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS



PROFA. DR.ª LAURA HORA RIOS LEITE
UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
CO-ORIENTADORA

Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas - Fisiologia e Farmacologia
Instituto de Ciências Biológicas - Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG

Belo Horizonte, 05 de maio de 2017

Trabalho realizado no Laboratório de Endocrinologia e Metabolismo do Departamento de Fisiologia e Biofísica do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, na vigência dos auxílios concedidos pelo Conselho Nacional e Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

Aos meus pais, pelos esforços e pelas orações contínuos.

À Ludmila, pelo apoio constante.

À Lorena, querida companheira de vida e porto seguro.

Ao querido Gilcelio, pela paciência e compreensão sem limites.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Cândido Celso Coimbra pela orientação valiosa, pela confiança e pela oportunidade de realização deste trabalho.

À Prof^a Laura Hora Rios Leite pela disponibilidade constante e pelas discussões valiosas.

Aos professores do Laboratório de Endocrinologia e Metabolismo (Prof. Raphael, Prof^a. Adelina e Prof^a. Maristela) por todo apoio, ensinamento e atenção.

À técnica Simone pela ajuda sempre presente e por compartilhar o conhecimento técnico fundamental para a concretização deste estudo.

A todos os amigos do Laboratório de Endocrinologia e Metabolismo pela convivência agradável e divertida e pelo apoio constante, em especial, Lucas, Helton, Frederico, Paulo e Gleisy.

À minha família pelo carinho, pela confiança e pelo apoio em minhas decisões.

À população brasileira que possibilita a educação e as pesquisas nas universidades federais.

Aos animais.

À secretaria do programa de pós-graduação.

À CAPES, FAPEMIG e CNPq pelo apoio financeiro.

“Só existe uma fraqueza para a qual não há remédio: falta de ambição. Seja paciente. Seja persistente.”

(Napoleon Hill)

RESUMO

A dopamina é uma monoamina que tem influência sobre a termorregulação, a motivação, a recompensa e o controle motor durante o exercício físico. Para avaliar o papel do sistema dopaminérgico central sobre a ativação neuronal de núcleos hipotalâmicos envolvidos com o desempenho físico e a termorregulação, salina (0,15 M, SAL, n = 15) ou SCH-23390 (10 nmol, bloqueador do receptor D₁, SCH, n = 15) foram injetados no ventrículo cerebral lateral direito de ratos Wistar no volume de 2µL antes do exercício submáximo (velocidade média de 15 m.min⁻¹ e 5° de inclinação) até a fadiga. Alguns animais foram submetidos também à microinjeção de salina com interrupção do exercício na mesma duração do exercício na situação SCH (SAL_{tsch}, n = 8). Além disso, os animais passaram pelos tratamentos SAL_{tsch} (n = 10) e SCH-23390 (n = 10) durante o repouso na esteira por 13 minutos, média do tempo de exercício em SCH. Foram registrados o tempo de exercício (TE), a temperatura corporal interna (T_{interna}) e a temperatura da pele da cauda (T_{cauda}), e calculados o trabalho (W), a taxa de aquecimento corporal (TAC), o acúmulo de calor (AC), a razão AC/W, o índice de dissipação de calor, o índice térmico e o limiar e a sensibilidade de dissipação cutânea de calor. Noventa minutos após os protocolos, os animais foram anestesiados e submetidos à eutanásia através de perfusão transcardíaca. Os cérebros foram analisados por ensaio de imunohistoquímica para determinação da expressão de c-Fos nas seguintes áreas hipotalâmicas: núcleo pré-óptico mediano (MnPO), núcleo pré-óptico medial (MPO), núcleo paraventricular do hipotálamo (PVN) e núcleo supra-óptico (SON). Durante o repouso não houve diferença na TAC, no AC, na T_{interna}, na T_{cauda} e no índice térmico entre SAL_{tsch} e SCH. O bloqueio do receptor D₁ reduziu o desempenho físico em 78% (p < 0,05) e não houve diferença na TAC, no AC, na razão AC/W e nem no índice térmico entre as situações durante a fase dinâmica do exercício. O índice de dissipação de calor, o limiar e a sensibilidade de dissipação cutânea de calor durante o exercício também não foram diferentes entre as situações. A T_{interna} ao final do exercício físico foi semelhante entre as situações, ao contrário da T_{cauda} que foi menor em SAL_{tsch} (1,5 °C, p < 0,05) e SCH (1,4 °C, p < 0,05). Durante os 30 minutos de

recuperação pós-exercício, a T_{interna} dos animais permaneceu elevada em relação aos valores basais e não foi diferente entre as situações. Entretanto, a T_{cauda} em SAL e SCH retornou aos valores basais no 15^o minuto após a fadiga. O bloqueio de D_1 no repouso suprimiu a ativação neuronal apenas no SON (60%; $p < 0,05$) em relação à SAL_{tsch} . O exercício físico aumentou a ativação neuronal no MnPO (144%; $p < 0,05$), no MPO (102%; $p < 0,05$), no PVN (562%; $p < 0,05$) e no SON (131%; $p < 0,05$). O tratamento com SCH-23390 quando comparado a SAL_{tsch} induziu aumento na ativação neuronal no MnPO (81%; $p < 0,05$), no PVN (116%; $p < 0,05$) e no SON (68%; $p < 0,05$) durante o exercício físico. Em contrapartida, não houve diferença na ativação neuronal entre os tratamentos SCH-23390 e SAL ($p > 0,05$). Os dados do presente estudo mostram que o receptor dopaminérgico D_1 é importante para a modulação do desempenho físico durante o exercício de corrida em esteira, entretanto, o efeito ergolítico não se mostrou relacionado aos ajustes termorregulatórios requeridos durante o exercício. Uma vez que a ativação neuronal foi semelhante entre os animais SCH e SAL, os quais correram até a fadiga, sugere-se que o bloqueio dos receptores D_1 modifica a percepção de esforço, dado que os animais SCH, apesar de apresentarem condições de continuar o exercício, tiveram a fadiga antecipada.

Palavras-chave: receptor dopaminérgico, SCH-23390, fadiga, termorregulação, c-Fos, área pré-óptica, núcleo paraventricular, núcleo supra-óptico.

ABSTRACT

Dopamine is a monoamine that influences thermoregulation, motivation, reward and motor control. To evaluate the role of the central dopaminergic system on neuronal activation of hypothalamic nuclei involved in physical performance and thermoregulation, 2 μ L of saline (0.15 M, SAL, n = 15) or SCH-23390 (10 nmol, D₁ receptor blocker, SCH, n = 15) were injected into the right cerebral lateral ventricle of Wistar rats before submaximal exercise (mean velocity of 15 m.min⁻¹ and 5° of treadmill inclination) until fatigue. Some animals were also microinjected with saline and submitted to the same duration of exercise as the SCH group (SAL_{tSCH}, n = 8). In addition, the animals underwent SAL_{tSCH} (n=10) and SCH (n=10) treatments during a resting period of 13 minutes, which corresponded to the mean exercise time of SCH. Exercise time (ET), internal body temperature (T_{body}) and tail skin temperature (T_{tail}) were recorded, and workload (W), body heating rate (BHR), heat storage (HS), HS / W ratio, heat dissipation index, thermal index, heat loss threshold and heat loss sensitivity were calculated. Ninety minutes after the protocols, the animals were anesthetized and submitted to euthanasia through transcardiac perfusion. The brains were analyzed by immunohistochemical assay to determine the expression of c-Fos in the following hypothalamic areas: median preoptic nucleus (MnPO), medial preoptic nucleus (MPO), paraventricular nucleus of the hypothalamus (PVN) and supra-optical nucleus (SON). During the resting period, there was no difference in BHR, HS, T_{body}, T_{tail} and thermal index between SAL_{tSCH} and SCH. The D₁ blockade reduced physical performance by 78% (p < 0.05) and no difference in BHR, HS, HS/W ratio and thermal index in the dynamic phase of exercise were observed between the experimental situations. The heat dissipation index, the heat loss threshold and heat loss sensitivity during exercise were also not different between groups. T_{body} at the end of the physical exercise was similar between treatments, unlike T_{tail} that was smaller in SAL_{tSCH} (1.5 °C; p < 0.05) and SCH (1.4 °C; p < 0.05). During post-exercise recovery, T_{body} of the animals remained elevated in comparison to baseline values and was not different between groups. However, T_{tail} in SAL and SCH returned to baseline at 15° minutes after fatigue. After the resting period, D₁ blockade suppressed neuronal

activation only in SON (60%; $p < 0.05$) in comparison to the SAL_{tsch}. Physical exercise increased neuronal activation in MnPO (144%; $p < 0.05$), MPO (102%; $p < 0.05$), PVN (562%; $p < 0.05$) and SON (131%; $p < 0.05$). Treatment with SCH-23390 increased neuronal activation in MnPO (81%; $p < 0.05$), PVN (116%; $p < 0.05$) and SON (68%; $p < 0.05$) after exercise, when compared to SAL_{tsch}. In contrast, there was no difference in neuronal activation between the treatments SCH-23390 and SAL ($p > 0.05$). The data from this study show that D₁ dopaminergic receptors are important modulators of physical performance during running exercise. However, the ergolytic effect was not related to thermoregulatory adjustments required during exercise. Since neuronal activation was similar between SCH and SAL animals, which ran until fatigue, it is possible that D₁ receptor blockade modifies the perception of effort as suggested by the fact that despite being able to continue exercise, SCH animals had fatigue anticipated.

Keywords: Dopamine receptor, SCH-23390, fatigue, thermoregulation, c-Fos, preoptic area, paraventricular nucleus, supraoptic nucleus.

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1: Representação dos mecanismos autonômicos de regulação da temperatura corporal interna (T_{interna}) em relação à zona termoneutra (ZTN) em mamíferos.
- FIGURA 2: Representação esquemática das vias neurais aferentes (lado esquerdo) e eferentes (lado direito) que estão envolvidos no controle da termogênese pelo tecido adiposo marrom e pela vasoconstrição cutânea mediante a estimulação térmica da pele.
- FIGURA 3: Representação das fases dinâmica e estável do balanço térmico durante o exercício submáximo de ratos, na esteira, em ambiente termoneutro.
- FIGURA 4: Representação da biossíntese, armazenamento, secreção e metabolismo da dopamina.
- FIGURA 5: Representação da estrutura dos receptores de dopamina das superfamílias D1 e D2.
- FIGURA 6: Ilustração das principais vias dopaminérgicas no sistema nervoso central.
- FIGURA 7: Representação esquemática dos grupos experimentais.
- FIGURA 8: Representação esquemática dos procedimentos gerais para os grupos exercício e repouso
- FIGURA 9: Representação esquemática do protocolo experimental para o grupo exercício.

FIGURA 10: Representação esquemática do protocolo experimental para o grupo repouso.

FIGURA 11. Efeito da injeção i.c.v. de SCH-23390 (10 nmol, 2 μ L, SCH) ou de NaCl 0,15 M (2 μ L, SAL_{tSCH}) sobre a temperatura corporal interna (T_{interna} , A), a temperatura da pele da cauda (T_{cauda} , C) e o índice térmico relativo à T_{interna} (B) e à T_{cauda} (D) durante o repouso.

FIGURA 12. Efeito da injeção i.c.v. de SCH-23390 (10 nmol, 2 μ L, SCH) ou de NaCl 0,15 M (2 μ L, SAL e SAL_{tSCH}) sobre o tempo de exercício submáximo (A) e o trabalho realizado (B) até a fadiga (SAL e SCH) ou até a sua interrupção (SAL_{tSCH}).

FIGURA 13. Efeito da injeção i.c.v. de SCH-23390 (10 nmol, 2 μ L, SCH) ou de NaCl 0,15 M (2 μ L, SAL e SAL_{tSCH}) sobre a temperatura corporal interna (T_{interna} , A), a temperatura da pele da cauda (T_{cauda} , C) durante o exercício submáximo até a fadiga (SAL e SCH) ou até a interrupção do exercício (SAL_{tSCH}) e o índice térmico referente à área sob a curva da T_{interna} (B) e da T_{cauda} (D) durante a fase dinâmica do exercício submáximo.

FIGURA 14. Índice de dissipação de calor e atividade termofetora durante o exercício submáximo após a injeção i.c.v. de SCH-23390 (10 nmol, 2 μ L, SCH) ou de NaCl 0,15 M (2 μ L, SAL e SAL_{tSCH}) até a fadiga (SAL e SCH) ou até a interrupção do exercício (SAL_{tSCH}).

FIGURA 15. Efeito do exercício (A, C) e da injeção i.c.v. (B, D) de SCH-23390 (10 nmol, 2 μ L, SCH) ou de NaCl 0,15 M (2 μ L, SAL e SAL_{tSCH}) sobre a taxa de aquecimento corporal (TAC) e o acúmulo de calor (AC), durante o repouso (TR=13min; A e C, respectivamente) e na fase dinâmica do exercício submáximo (TE=10min; B e D, respectivamente), e a razão entre o AC e o trabalho (E) durante fase dinâmica.

FIGURA 16. Efeito da injeção i.c.v. de SCH-23390 (10 nmol, 2 μ L, SCH) ou de NaCl 0,15 M (2 μ L, SAL) sobre a temperatura corporal interna (T_{interna}) em relação ao percentual do trabalho máximo realizado até a fadiga (% W Máximo).

FIGURA 17. Efeito da injeção i.c.v. de SCH-23390 (10 nmol, 2 μ L, SCH) ou de NaCl 0,15 M (2 μ L, SAL e SAL_{tSCH}) sobre a temperatura corporal interna (T_{interna} , A) e a temperatura da pele da cauda (T_{cauda} , B) durante o período de recuperação pós-exercício.

FIGURA 18. No painel superior, desenho esquemático segundo Atlas Paxinos e Watson do núcleo pré-óptico mediano (MnPO). No painel inferior, número de células imunomarcadas por c-Fos no MnPO durante o repouso na esteira e o exercício submáximo até a fadiga.

FIGURA 19. No painel superior, desenho esquemático segundo Atlas Paxinos e Watson do núcleo pré-óptico medial (MPO). No painel inferior, número de células imunomarcadas por c-Fos no MPO durante o repouso na esteira e o exercício submáximo até a fadiga.

FIGURA 20. No painel superior, desenho esquemático segundo Atlas Paxinos e Watson do núcleo paraventricular do hipotálamo (PVN). No painel inferior, número de células imunomarcadas por c-Fos no PVN durante o repouso na esteira e o exercício submáximo até a fadiga.

FIGURA 21. No painel superior, desenho esquemático segundo Atlas Paxinos e Watson do núcleo supra-óptico (SON). No painel inferior, número de células imunomarcadas por c-Fos no SON durante o repouso na esteira e o exercício submáximo até a fadiga.

FIGURA 22. Efeito da injeção i.c.v. de SCH-23390 (10 nmol, 2 μ L, SCH) ou de NaCl 0,15 M (2 μ L, SAL_{tSCH}) na expressão de células imunomarcadas por c-Fos nos núcleos pré-óptico medial (MPO, A), pré-óptico mediano (MnPO, B), paraventricular do hipotálamo (PVN, C) e supra-óptico (SON, D) durante o repouso na esteira e o exercício submáximo até a sua interrupção (SAL_{tSCH}) ou até a fadiga (SCH).

FIGURA 23. Efeito da fadiga após a i.c.v. de NaCl 0,15 M (2 μ L, SAL) ou de SCH-23390 (10 nmol, 2 μ L, SCH) na expressão de células imunomarcadas por c-Fos nos núcleos pré-óptico medial (MPO, A), pré-óptico mediano (MnPO, B), paraventricular do hipotálamo (PVN, C) e supra-óptico (SON, D) durante o exercício submáximo até a fadiga.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: Caracterização dos animais dos grupos exercício e repouso.

TABELA 2: Distribuição balanceada dos animais no protocolo experimental de exercício.

TABELA 3: Distribuição balanceada dos animais no protocolo experimental de repouso.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIACÕES

μL	- Microlitro
5-HT	- Serotonina
AC	- Acúmulo de calor
AMP _c	- 3',5' -adenosina-monofosfato cíclico
APO	- Área pré-óptica
ATP	- Adenosina trifosfato
c	- Calor específico do tecido
CEBIO	- Centro de Bioterismo
CEUA	- Comissão de Ética no Uso de Animais
DA	- 3,4 dihidroxifeniletilamina (dopamina)
DOPAC	- Ácido diidroxifenilacético
E.P.M.	- Erro padrão da média
g	- Grama
HA	- Hipotálamo anterior
i.c.v.	- Intracerebroventricular
ICB	- Instituto de Ciências Biológicas
Kg	- Kilograma
L-DOPA	- L-3,4-dihidroxifenilalanina
m	- Massa corporal
mA	- Miliampère
mL	- Mililitro
MnPO	- Núcleo pré-óptico mediano
MPO	- Núcleo pré-óptico medial
NA	- Noradrenalina
PVN	- Núcleo paraventricular do hipotálamo
SNC	- Sistema nervoso central
SON	- Núcleo supra-óptico
T _a	- Temperatura ambiente
TAC	- Taxa de aquecimento corporal
T _{cauda}	- Temperatura da pele da cauda

TE	- Tempo de exercício
TE _d	- Tempo de exercício na fase dinâmica
T _{interna}	- Temperatura corporal interna
TR	- Tempo de repouso
UFMG	- Universidade Federal de Minas Gerais
W	- Trabalho
ZTN	- Zona termoneutra

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	22
1.1. Termorregulação.....	23
1.2. Termorregulação e exercício físico.....	28
1.3. Termorregulação e determinação da fadiga.....	29
1.4. Sistema dopaminérgico.....	32
1.5. Sistema dopaminérgico, desempenho físico e termorregulação.....	37
1.6. Justificativa.....	39
2. OBJETIVOS.....	41
2.1 Objetivo geral.....	42
2.2 Objetivos específicos.....	42
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	43
3.1. Animais.....	44
3.2. Grupos experimentais.....	44
3.3. Procedimentos gerais.....	45
3.3.1. Adaptação ao exercício na esteira.....	45
3.3.2. Procedimentos cirúrgicos.....	46
3.3.2.1. Procedimento cirúrgico 1.....	47
3.3.2.2. Procedimento cirúrgico 2.....	48
3.3.3. Readaptação na esteira após as cirurgias.....	48
3.4. Delineamento experimental.....	49
3.5. Imunohistoquímica.....	54
3.5.1. Eutanásia, fixação, congelamento e corte do tecido cerebral.....	54
3.5.2. Imunohistoquímica de marcação simples.....	55
3.6. Variáveis de análise.....	56

3.6.1. Variáveis medidas	56
3.6.2. Variáveis calculadas	57
3.6.3. Variáveis de controle	59
3.7. Análise estatística	59
4. RESULTADOS	60
4.1. Efeito do bloqueio dos receptores D ₁ centrais sobre a T _{interna} , a T _{cauda} e o índice térmico de animais durante repouso.	61
4.2. Efeito do bloqueio dos receptores D ₁ centrais sobre o tempo de exercício e o trabalho de animais durante o exercício submáximo até a fadiga.	63
4.3. Efeito do bloqueio dos receptores D ₁ centrais sobre a T _{interna} , a T _{cauda} e o índice térmico de animais durante o exercício submáximo até a fadiga.	64
4.4. Efeito do bloqueio dos receptores D ₁ centrais sobre o índice de dissipação de calor, limiar e sensibilidade da dissipação cutânea de calor de animais durante o exercício submáximo até a fadiga.	67
4.5. Efeito do bloqueio dos receptores D ₁ Centrais sobre a taxa de aquecimento corporal, o acúmulo de calor e a razão entre o acúmulo de calor e trabalho de animais durante o exercício submáximo.	69
4.6. Efeito do bloqueio dos receptores D ₁ centrais sobre a T _{interna} em relação ao percentual do trabalho máximo.	71
4.7. Efeito do bloqueio dos receptores D ₁ centrais sobre a recuperação pós-exercício.....	72
4.8. Efeito do exercício submáximo até a fadiga sobre a ativação neuronal de núcleos hipotalâmicos.....	74
4.9. Efeito da injeção i.c.v. de SCH-23390 (10 nmol) ou Salina (0,15 M NaCl) sobre a ativação neuronal de núcleos hipotalâmicos.....	79
5. DISCUSSÃO.....	84
6. CONCLUSÃO.....	95
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	97

1. INTRODUÇÃO

1.1. TERMORREGULAÇÃO

A temperatura corporal interna (T_{interna}) nos animais homeotérmicos é mantida em aproximadamente 37°C, mesmo durante a exposição aos ambientes com diferentes temperaturas, inclusive em temperaturas extremas de frio ou de calor. Esta estreita variação da T_{interna} se deve à regulação constante e integrada dos mecanismos de produção e dissipação de calor (BRIESE, 1998; WEBB, 1995).

O balanço térmico entre a produção de calor e a sua dissipação é mantido por meio de um conjunto de ajustes autonômicos e comportamentais (Figura 1) (CHEN et al., 1998). Tais respostas termofetoras se diferenciam de acordo com a temperatura ambiente (T_a) na qual o ser homeotérmico se encontra, e mantêm um estado de equilíbrio dinâmico entre as taxas de produção e de dissipação de calor corporal (GORDON, 1990). Em relação aos mecanismos autonômicos, na zona termoneutra (ZTN) da T_a , a atividade metabólica é mínima e a T_{interna} é regulada principalmente pela modulação do tônus vasomotor periférico. Quando a T_a é maior do que aquela na ZTN ($T_a > \text{ZTN}$), os mecanismos de dissipação de calor são ativados, sendo estes diferentes entre as espécies, como, por exemplo, a vasodilatação periférica, a perda evaporativa de calor através da salivação e a perda evaporativa pela respiração nos roedores (GORDON, 1990; WEBB, 1995). Entretanto, em ambiente frio no qual a T_a é menor do que aquela na ZTN ($T_a < \text{ZTN}$) acontece a ativação dos mecanismos de produção ou manutenção de calor, como a vasoconstrição periférica, a piloereção, a termogênese associada ao tremor e a elevação do metabolismo do tecido adiposo marrom (GORDON, 1990). Concomitantemente, os mecanismos comportamentais apresentados de acordo com a T_a contribuem com a regulação da T_{interna} , como, por exemplo, a construção de ninhos, as mudanças na atividade locomotora e na ingestão de alimentos, os ajustes posturais e a seleção de ambiente com temperatura adequada (ROMANOVSKY, 2007; SCHLADER; STANNARD; MÜNDEL, 2010).

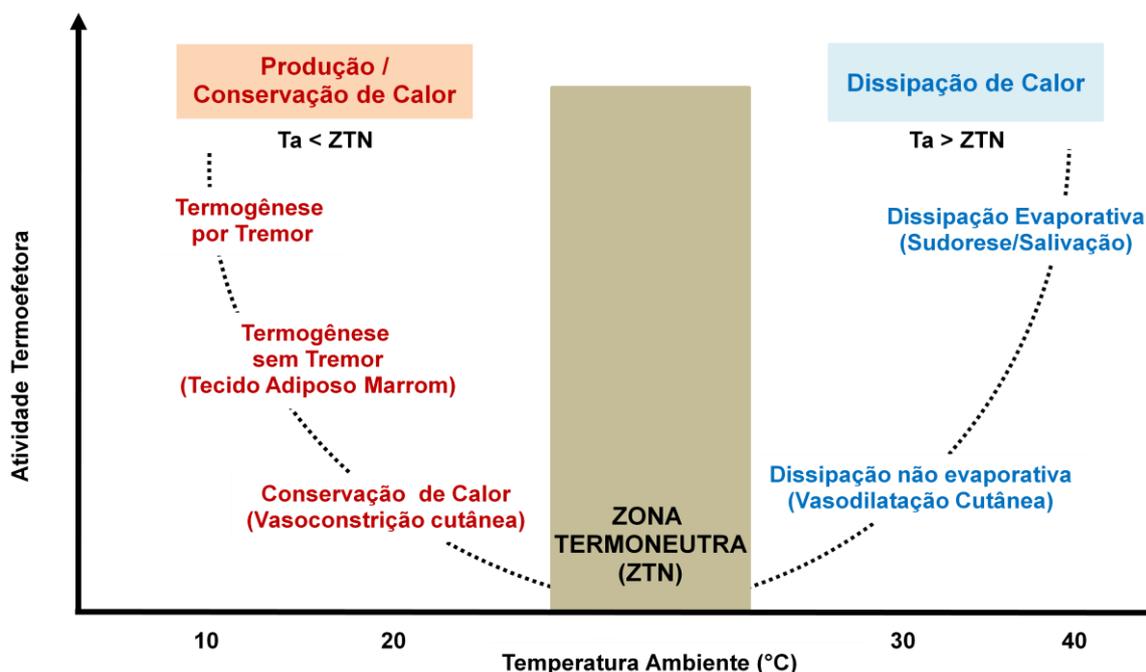


Figura 1. Representação dos mecanismos autonômicos de regulação da temperatura corporal interna (T_{interna}) em relação à zona termoneutra (ZTN) em mamíferos. A exposição ao frio ($T_a < ZTN$) ativa os mecanismos de produção de calor e inibe os mecanismos de dissipação de calor. Situação inversa ocorre quando se tem a exposição ao calor ($T_a > ZTN$). Adaptado de Almeida (2006).

A manutenção da T_{interna} dentro de uma faixa estreita de variação é possível devido à existência de diversos sensores e efetores que englobam o sistema termorregulatório. Tem sido proposto que esse ajuste complexo é decorrente de um agrupamento de alças efetoras relativamente independentes (ROMANOVSKY, 2007; ROMANOVSKY et al., 2009), na qual cada termoeffetor possui uma via neural de controle distinto (NAGASHIMA et al., 2000; MORRISON; NAKAMURA; MADDEN, 2008; MCALLEN et al., 2010). Contrariando a hipótese da existência de um valor de referência hipotalâmico termorregulatório (*set point*) para a T_{interna} e um controlador único (HAMMEL et al., 1963; WERNER, 1980), os modelos conceituais novos defendem que cada via efetora é ativada de maneira independente mediante o sistema de retroalimentação fornecido pela T_{interna} e pela temperatura da superfície corporal.

O hipotálamo anterior (HA) e, principalmente, a área pré-óptica (APO) têm sido destacados como centros primários da integração dos sinais térmicos oriundos dos sensores térmicos, e, portanto da regulação da T_{interna} (HASEGAWA

et al., 2005; NAGASHIMA, 2006; ROMANOVSKY, 2007; NAKAMURA; MORRISON, 2008). As informações térmicas são percebidas pelos termossensores presentes na pele, nas vísceras e nas regiões cerebrais, e são transmitidas ao centro termorregulador (APO), por meio da medula espinhal. Na APO, essas informações neurais ascendentes são integradas e, através das eferências sensoriais para outros sítios, e, por fim, para os órgãos termoefetores, o controle da T_{interna} é promovido (BOULANT, 2000; ROMANOVSKY et al., 2009; NAKAMURA, 2011).

Apesar de cada termoefetor ter sua alça neural independente, algumas destas vias seguem padrões similares. Os estímulos de calor captados pelos sensores cutâneos são direcionados através do gânglio da raiz dorsal até a APO, mais especificamente, até os núcleos pré-óptico mediano (MnPO) e medial (MPO). Nestes núcleos, os neurônios GABAérgicos sensíveis ao calor são estimulados e, dessa maneira, inibem tonicamente os neurônios do hipotálamo dorsomedial e do núcleo rostral da rafe pálida (Figura 2), que são protagonistas na estimulação simpático-excitatória para a ativação dos mecanismos termogênicos (NAKAMURA; MORRISON, 2007; MORRISON; NAKAMURA; MADDEN, 2008). Assim, como mecanismos protetores do aumento da T_{interna} , as respostas eferentes de inibição da vasoconstrição cutânea, da termogênese pelo tecido adiposo marrom e do tremor pelo tecido muscular esquelético são inibidas (ROMANOVSKY et al., 2009; NAKAMURA, 2011).

O controle autonômico em condição de exposição ao frio segue vias neurais semelhantes àsquelas do estímulo de calor (Figura 2). Entretanto, ao serem integradas no MnPO, as informações provenientes dos neurônios sensíveis ao frio estimulam as terminações GABAérgicas que se projetam para o MPO e, de tal modo, os neurônios sensíveis ao calor são inibidos. Como resultado, a resposta eferente proporciona a liberação de neurotransmissores que estimulam a vasoconstrição cutânea, assim como, a termogênese pelo tecido adiposo marrom e pelo tremor do tecido muscular esquelético. Dessa maneira, a redução acentuada da T_{interna} é prevenida (ROMANOVSKY et al., 2009; NAKAMURA, 2011).

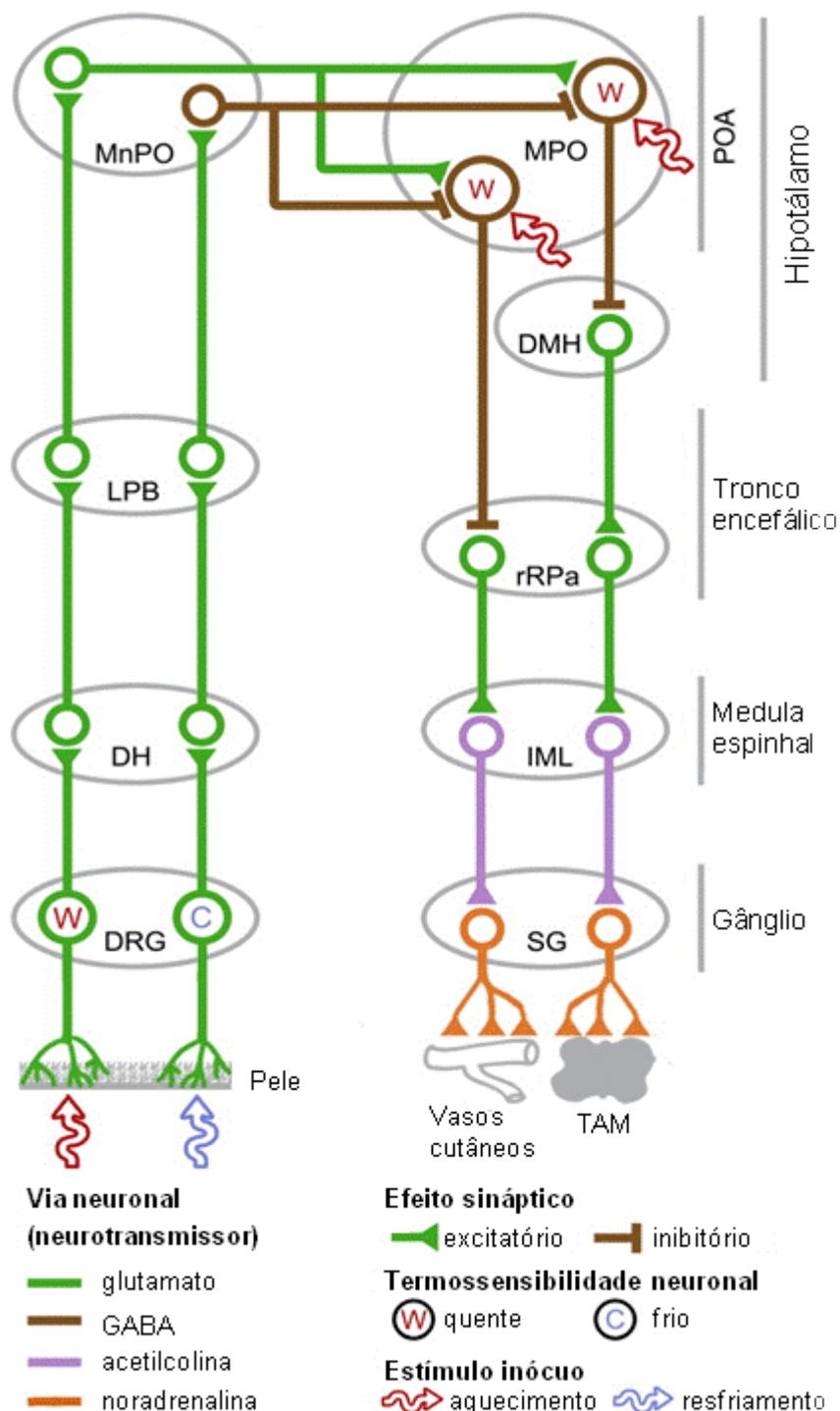


Figura 2. Representação esquemática das vias neurais aferentes (lado esquerdo) e eferentes (lado direito) que estão envolvidas no controle da termogênese pelo tecido adiposo marrom e pela vasoconstrição cutânea mediante a estimulação térmica da pele. DRG, gânglio da raiz dorsal; DH, corno dorsal; LPB, núcleo parabraquial lateral; MnPO, núcleo pré-óptico mediano; MPO, núcleo pré-óptico medial; POA, área pré-óptica; DMH, hipotálamo dorsomedial; rRPa, rafe pálida rostral; IML, coluna intermédio-lateral; SG, gânglio simpático; TAM, tecido adiposo marrom. Adaptado de Romanovsky e colaboradores (2009).

Apesar das respostas termorregulatórias serem em grande parte integradas na APO, o controle homeostático da T_{interna} também pode sofrer influência de outras áreas cerebrais. A APO emite projeções neuronais para várias regiões do sistema nervoso central (SNC) modulando a atividade desses sítios participantes do controle da T_{interna} , como o núcleo paraventricular do hipotálamo (PVN) e o núcleo ventromedial (NAGASHIMA, 2006; ROMANOVSKY, 2007). As eferências neurais decorrentes desses núcleos modulam as respostas efetoras específicas como a salivação, o tônus vasomotor, o tremor, a atividade metabólica do tecido adiposo marrom e o comportamento, sendo cada uma por via neural distinta e independente (KAZUYUKI et al., 1998; NAGASHIMA, 2006; ROMANOVSKY, 2007). Além destes locais, tal centro integrador da termorregulação também envia projeção neuronal para o núcleo supra-óptico (SON), que está relacionado com a manutenção do balanço hidroeletrólítico durante o estresse térmico (NUÑEZ et al., 2012; YOSHIDA et al., 2002).

O PVN, além de seu papel como sítio integrador da atividade nervosa simpática que regula a função cardiovascular (PATEL, 2000; LI et al., 2006; LEITE et al., 2012), também participa do controle da T_{interna} , uma vez que contém neurônios termossensíveis que são ativados mediante estresse térmico (BRATINCSÁK; PALKOVITS, 2004; CHAM et al., 2006). Estudos demonstraram que durante a exposição ao frio, ratos apresentaram aumento na expressão da proteína de atividade neuronal, c-Fos, no PVN. Em contrapartida, quando os neurônios sensíveis ao calor da APO foram estimulados ocorreu supressão do aumento na atividade neuronal do PVN por meio de neurônios inibitórios (YOSHIDA et al., 2002; MADDEN; MORRISON, 2009).

O PVN, por meio de projeções para outras áreas como a rafe pálida, a medula ventrolateral rostral e a coluna intermediolateral, participa da regulação da atividade simpática dos órgãos efetores envolvidos na termorregulação, como, por exemplo, o tecido adiposo marrom, a glândula salivar e o leito vascular cutâneo da cauda de roedores (KANOSUE et al., 1998; SMITH et al., 1998; CHAM; BADOER, 2008; MADDEN; MORRISON, 2009; LEITE et al., 2012). Portanto, tal núcleo hipotalâmico, conjuntamente com a APO, tem papel importante no complexo controle da T_{interna} .

1.2. TERMORREGULAÇÃO E EXERCÍCIO FÍSICO

O controle homeostático da T_{interna} é desafiado durante o exercício físico e, em geral, observa-se elevação da T_{interna} proporcional à carga de trabalho realizado (HARRI; KUUSELA; OKSANEN-ROSSI, 1982). Tal fato é decorrente do descompasso entre o aumento do calor metabolicamente produzido e da capacidade de dissipação do mesmo (WEBB, 1995; GLEESON, 1998).

A contração muscular requerida durante o exercício físico aumenta a demanda energética dos músculos ativos (GALBO, 1985; COYLE, 2000). Esta contração converte apenas 20-27% da energia química presente nas moléculas de adenosina trifosfato (ATP) em trabalho mecânico (BROOKS; DONOVAN; WHITE, 1984) enquanto que a energia restante na molécula de ATP é convertida em calor.

O balanço térmico durante o exercício físico realizado em velocidade constante e em ambiente termoneutro se assemelha entre ratos (LACERDA; MARUBAYASHI; COIMBRA, 2005; LACERDA et al., 2006) e humanos (WEBB, 1995). Este balanço pode ser dividido em duas fases: a dinâmica e a estável (Figura 3). A fase dinâmica do balanço térmico ocorre nos minutos iniciais do exercício e é caracterizada por aumento acentuado da taxa metabólica e por expressiva diminuição da dissipação de calor mediada pela vasoconstrição periférica decorrente da ativação simpática (HARTLEY et al., 1972; MCALLISTER; HIRAI; MUSCH, 1995). Como resultado, a T_{interna} se eleva rapidamente nos minutos iniciais do exercício físico (RODRIGUES et al., 2004; LEITE et al., 2006; LIMA et al., 2014). Após o tônus simpático periférico cutâneo ser superado, ou seja, quando o limiar térmico para vasodilatação cutânea é alcançado, se inicia a fase estável do balanço térmico. Nesta fase é observada intensa vasodilatação periférica, o que facilita a dissipação de calor, e aumento menos acentuado da taxa metabólica decorrente do equilíbrio entre a energia necessária para contração muscular e a produção de ATP pelo metabolismo aeróbico (BARSTOW, 1994). Sendo assim, a T_{interna} tem uma elevação mais lenta e gradual até o momento da interrupção do exercício (LACERDA; MARUBAYASHI; COIMBRA, 2005).

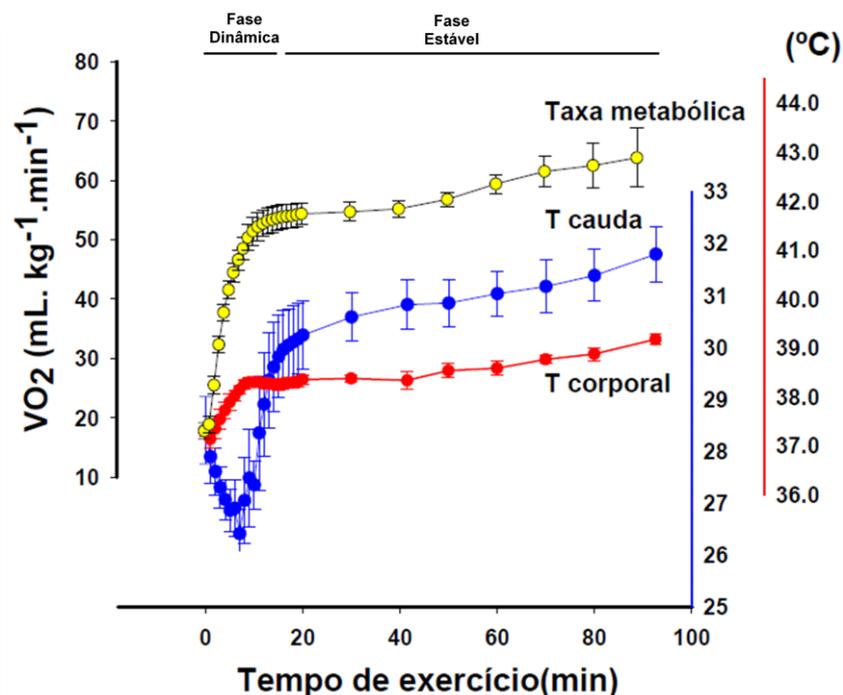


Figura 3. Consumo de oxigênio (VO_2), temperatura da pele da cauda (T_{cauda}) e temperatura corporal ($T_{corporal}$) de ratos durante o exercício submáximo na esteira ($18 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$, 5% de inclinação) até a fadiga, em ambiente termoneutro ($21\text{-}24^\circ\text{C}$). Nos minutos iniciais do exercício ocorre aumento pronunciado da $T_{corporal}$ em decorrência do aumento da taxa metabólica pelos músculos ativos, seguida pela ativação simpática que gera vasoconstrição na pele da cauda que é demonstrada pela redução da T_{cauda} . A $T_{corporal}$ aumenta até que o limiar térmico para vasodilatação cutânea seja alcançado e, então, a taxa de dissipação de calor se aproxima da taxa de aquecimento corporal resultando em aumento menos acentuado da $T_{corporal}$, a qual permanece estável em um novo patamar até o momento da fadiga. Adaptado de Lacerda (2006).

1.3. TERMORREGULAÇÃO E DETERMINAÇÃO DA FADIGA

O aumento da $T_{interna}$ e da taxa de acúmulo de calor tem sido apontados como fatores limitantes do desempenho durante o exercício físico prolongado (FULLER; CARTER; MITCHELL, 1998; GONZÁLEZ-ALONSO et al., 1999; WALTERS et al., 2000; NYBO; NIELSEN, 2001; RODRIGUES et al., 2003). A manutenção do exercício nessas condições pode ocasionar hipertermia excessiva que resultaria em apoptose celular e/ou dano cerebral e muscular. Por isso, a fadiga é vista como uma resposta protetora na qual o animal voluntariamente interrompe o exercício evitando o choque térmico (CHEUNG; SLEIVERT, 2004).

O aumento dos valores da T_{interna} durante o exercício tem sido proposto como um fator que acentua a percepção do esforço, a qual resulta em diminuição do estímulo do SNC para as áreas motoras e, conseqüentemente, a interrupção voluntária do exercício físico (NYBO; NIELSEN, 2001).

A hipótese de existir um valor crítico absoluto de T_{interna} que limita a continuidade do exercício físico e determina a fadiga (FULLER; CARTER; MITCHELL, 1998; GONZÁLEZ-ALONSO et al., 1999) tem sido questionada, uma vez que estudos sugerem que a fadiga é determinada pelo aumento da T_{interna} bem como pela detecção de sinais térmicos dinâmicos, como a taxa de aquecimento corporal e o calor acumulado, pelo SNC (LIMA; COIMBRA; MARUBAYASHI, 1998; RODRIGUES et al., 2003; LACERDA; MARUBAYASHI; COIMBRA, 2005; LEITE et al., 2006; WANNER et al., 2007). Em relação à primeira hipótese, estudos utilizando ratos observaram que o exercício foi interrompido pelos animais em uma mesma temperatura, tanto cerebral quanto retal ou abdominal, independentemente da T_{interna} inicial do exercício (FULLER; CARTER; MITCHELL, 1998; WALTERS et al., 2000). Por outro lado, Rodrigues e colaboradores (2003) demonstraram que a taxa de acúmulo de calor, que avalia o calor acumulado nos tecidos durante o exercício, seria a variável que melhor correlaciona com o aparecimento da fadiga, visto que a T_{interna} final foi diferente quando submeteram os animais em diferentes intensidades de exercício e condições ambientais.

A fadiga também se relaciona com causas multifatoriais como, por exemplo, a redução de substratos energéticos e do fluxo sanguíneo para os músculos ativos, o cérebro e demais órgãos vitais, assim como, com o aumento da percepção do esforço e com as alterações na relação dos neurotransmissores cerebrais serotonina e dopamina (CHEUNG; SLEIVERT, 2004; COIMBRA; SOARES; LEITE, 2012).

Estudos desenvolvidos nesse laboratório demonstraram que o aumento do limiar térmico para a vasodilatação cutânea, com conseqüente elevação da taxa de aquecimento corporal, desencadeado pelo bloqueio central dos sistemas do óxido nítrico e angiotensinérgico, resultou em redução do desempenho físico. (LACERDA; MARUBAYASHI; COIMBRA, 2005; LEITE et al., 2006). O tratamento

de ratos com L-NAME durante o exercício físico também reduziu a expressão de c-Fos no PVN, além de prejudicar a regulação autonômica de dissipação de calor, resultando na antecipação da fadiga (LIMA et al., 2014).

Em contrapartida, quando as transmissões centrais colinérgica e a dopaminérgica são estimuladas, a relação inversa entre a taxa de aquecimento corporal e o desempenho físico deixa de ser o fator determinante da fadiga. O sistema colinérgico está envolvido na termorregulação por facilitar a dissipação de calor através da vasodilatação cutânea, resultando em atenuação do aumento da T_{interna} . Com isso, o principal fator indutor da fadiga seria o esforço cardiovascular (RODRIGUES et al., 2004; PIRES et al., 2007; PRÍMOLA-GOMES et al., 2007). Quanto à ação do sistema dopaminérgico central, a injeção central de dopamina em ratos apresenta efeito ergogênico durante o exercício físico apesar da indução do aumento da taxa metabólica, seguido de hipertermia e aumento do acúmulo de calor (BALTHAZAR et al., 2009). Tais achados sugerem que a dopamina aprimora o desempenho físico por melhorar a tolerância ao calor por meio da atenuação da percepção de esforço dos animais. Estudos realizados com humanos (WATSON et al., 2005; ROELANDS et al., 2008a) e com animais (HASEGAWA et al., 2008) mostraram que o uso de bupropiona (inibidor da recaptação de dopamina e noradrenalina) melhorou o desempenho físico no ambiente quente (30°C) embora tenha ocasionado maior T_{interna} ao final do exercício. Segundo os autores, a hipertermia registrada após o uso de bupropiona não foi relacionada com modificações na percepção subjetiva do esforço dos participantes (WATSON et al., 2005; ROELANDS et al., 2008a). Portanto, atenção deve ser dada ao risco de desenvolvimento de doenças relativas ao calor após o uso de bupropiona, uma vez que o papel da dopamina no sistema de recompensa melhorar o desempenho físico, mas também parece minimizar os sinais inibitórios provenientes do SNC para interrupção do exercício devido ao aumento exacerbado da T_{interna} (WATSON et al., 2005; HASEGAWA et al., 2008).

Estudos demonstraram que o exercício físico se relaciona com a ativação neuronal de núcleos hipotalâmicos envolvidos com o controle termorregulatório. Santiago e colaboradores (2016) observaram melhora do desempenho físico e da dissipação de calor em ratos durante o exercício progressivo até a fadiga após

treinamento físico de oito semanas em esteira. Tais respostas se relacionaram com a maior ativação neuronal do MnPO, do MPO e do PVN. Soya e colaboradores (2007) demonstraram que o exercício físico realizado com velocidade acima do limiar para lactato também se relacionou com a maior ativação neuronal do MPO, do PVN e do SON. Dessa forma, tendo em vista que a maior ativação neuronal dessas áreas cerebrais estaria envolvida com o melhor desempenho físico e que a dopamina também proporciona aprimoramento do desempenho durante a corrida em esteira, torna-se relevante verificar a modulação do sistema dopaminérgico na ativação neuronal destas áreas.

1.4. SISTEMA DOPAMINÉRGICO

A dopamina (DA, 3,4 dihidroxifeniletilamina) é uma catecolamina endógena sintetizada a partir do aminoácido tirosina pelas enzimas tirosina hidroxilase e DOPA descarboxilase. O aminoácido aromático tirosina é principalmente proveniente da dieta, contudo pode ser sintetizado a partir da fenilalanina no fígado. Os neurônios e as células cromafins captam a tirosina, por meio de mecanismo sódio-dependente, e a converte em L-3,4-dihidroxifenilalanina (L-DOPA) pela ação da enzima tirosina hidroxilase. Esta enzima consiste no passo limitante da velocidade de síntese da dopamina, uma vez que ela é específica e ativada pela acetilcolina por meio do receptor colinérgico nicotínico. Este receptor ativa a proteína quinase A pela via 3',5'-adenosina-monofosfato cíclico (AMPC) proporcionando maior atividade dessa enzima. Por sua vez, o metabólito L-DOPA é convertido em DA pela enzima DOPA descarboxilase (NICHOLLS, 1994; BEN-JONATHAN; HNASKO, 2001; GOODMAN; GILMAN; BRUNTON, 2010; GARDNER; GREENSPAN, 2011; RANG, 2012).

Após a sua síntese, a DA é translocada para vesículas secretórias para que seja armazenada, protegida de ação de enzimas citoplasmáticas e secretada. A fusão das vesículas secretórias com a membrana plasmática do terminal pré-sináptico resulta na liberação da DA na fenda sináptica ou no espaço extracelular (para os neurônios dopaminérgicos túbero-infundibular). Então, o neurotransmissor liberado se liga aos receptores de membrana, nos terminais

pós-sinápticos, e dá-se início às cascatas intracelulares nas células-alvo. A DA que não se ligou aos receptores na fenda sináptica é recaptada pelos transportadores de dopamina, localizados na membrana plasmática dos neurônios pré-sinápticos e, juntamente com a DA recém-sintetizada, é translocada para dentro das vesículas secretórias por meio dos transportadores de monoaminas vesiculares. Uma parte da DA nos terminais pré-sinápticos pode ser catabolizada através da ação da monoamina oxidase presente na membrana mitocondrial, resultando em ácido diidroxifenilacético (DOPAC). A DA na fenda sináptica também pode ser convertida em 3-metoxitiramina por meio da enzima catecol-O-metiltransferase (Figura 4) (BEN-JONATHAN; HNASKO, 2001).

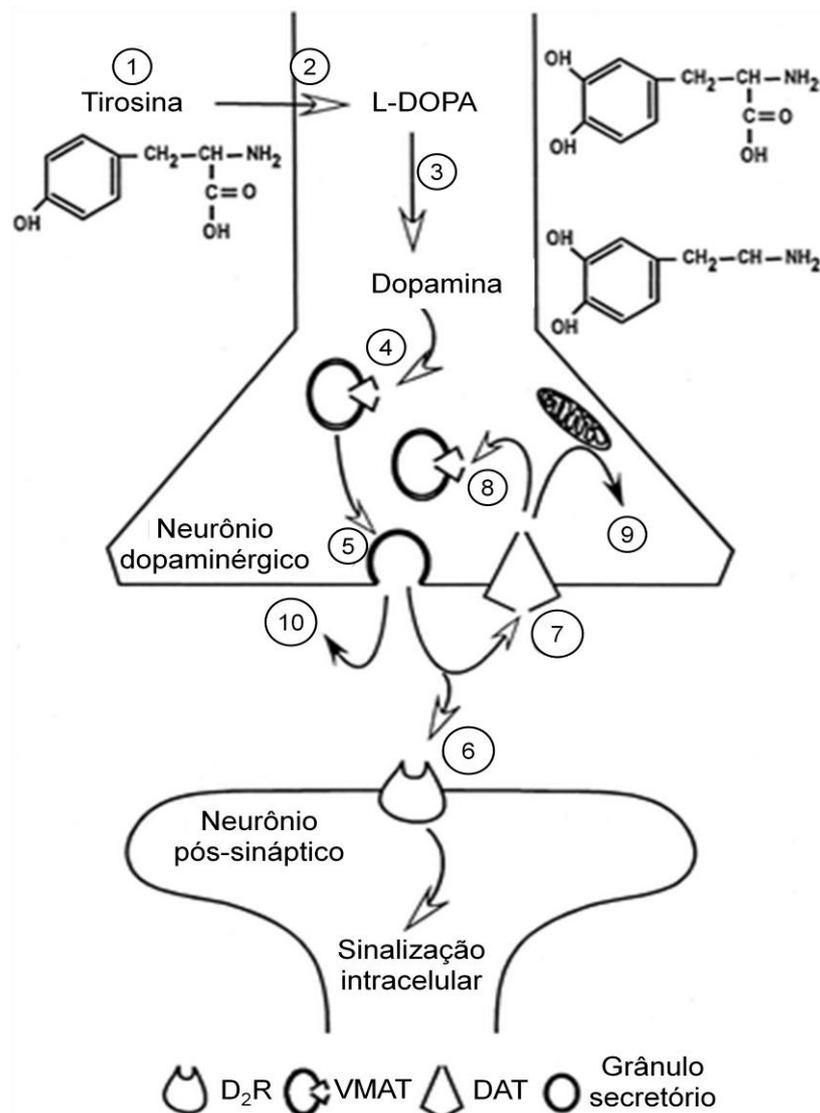


Figura 4. Representação da biossíntese, liberação e metabolismo da dopamina: 1) A tiroxina é captada para dentro do neurônio por um mecanismo sódio-dependente; 2) Conversão de tiroxina em L-DOPA pela TH, passo limitante da via de biossíntese; 3) Conversão de L-DOPA em dopamina pela enzima DDC; 4) Translocação da dopamina para as vesículas secretoras para ser armazenada e, posteriormente, secretada; 5) Fusão das vesículas secretoras com a membrana plasmática resultando na liberação da dopamina na fenda sináptica ou no espaço extracelular; 6) A dopamina se liga aos seus receptores de membrana e inicia múltiplas respostas nas células-alvo; 7) Recaptação da dopamina livre na fenda sináptica pelo DAT, localizados na membrana plasmática do neurônio pré-sináptico; 8) A dopamina recém-sintetizada e a recaptada pela célula são translocadas pelo VMAT para as vesículas secretoras; 9) A MAO localizada na membrana externa mitocondrial converte a dopamina em seu metabólito deaminado (DOPAC); 10) COMT converte a dopamina ou o seu metabólito deaminado em produtos biologicamente inativos (3-metoxitiramina e ácido homovanílico, respectivamente). COMT: enzima catecol-O-metiltransferase; DDC: enzima DOPA descarboxilase; D₂R: receptor de dopamina D₂; DAT: transportadores de dopamina; MAO: monoamina oxidase; VMAT: transportadores de monoaminas vesiculares; TH: tiroxina hidroxilase. Adaptado de Ben-Jonathan e Hnasko (2001).

A DA exerce suas ações nos sistemas biológicos através da ligação a receptores específicos presentes nas membranas das células-alvo. Os receptores dopaminérgicos constituem uma superfamília de receptores acoplados a proteína G e possuem sete domínios de expansão transmembranar com três alças para o lado extracelular e três para o intracelular (Figura 5) (LACHOWICZ; SIBLEY, 1997; MISSALE et al., 1998; BEN-JONATHAN; HNASKO, 2001). Os receptores dopaminérgicos são agrupados em duas subfamílias: família D1, que inclui D₁ e D₅, e a família D2, que é composta por D₂, D₃ e D₄ (JACKSON; WESTLIND-DANIELSSON, 1994; VALLONE; PICETTI; BORRELLI, 2000; BEN-JONATHAN; HNASKO, 2001; GOODMAN; GILMAN; BRUNTON, 2010). Os receptores da família D1 são acoplados à subunidade da proteína G excitatória (G_s), proporcionando aumento na concentração intracelular de AMPc, enquanto que os da família D2 são acoplados à subunidade inibitória (G_i) resultando em redução da concentração de AMPc intracelular (VALLONE; PICETTI; BORRELLI, 2000; GOODMAN; GILMAN; BRUNTON, 2010).

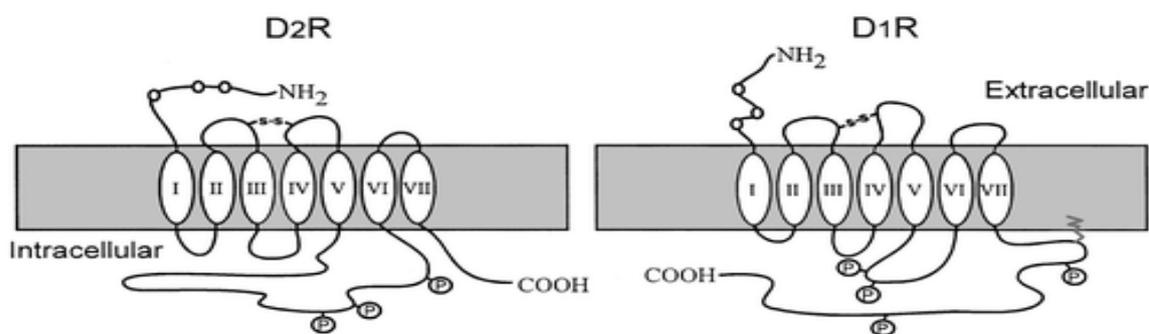


Figura 5. Representação da estrutura dos receptores de dopamina das superfamílias D1 e D2. Ambos possuem receptores acoplados a proteína G com sete domínios transmembranar. A família D2 possui a terceira alça intracelular maior enquanto que a família de D1 tem um terminal carboxila citoplasmático mais longo. Os círculos abertos representam os locais de N-glicosilação; os círculos preenchidos com P, a fosforilação putativa; e, a ligação s-s, a ponte dissulfeto do lado extracelular. Adaptado de Ben-Jonathan e Hnasko (2001).

Os receptores D₁, no SNC, são expressos principalmente no caudado putâmen, no núcleo accumbens, no turbéculo olfatório, no córtex cerebral, na amígdala, no tálamo e no hipotálamo. Os D₅ têm distribuição menos abrangente quando comparados com o D₁ e são expressos no hipocampo, no núcleo mamilar

lateral e no núcleo parafascicular do tálamo. Dentre os receptores dopaminérgicos da família D₂, os receptores D₂ são os que possuem maior abrangência nos tecidos cerebrais, sendo expressos no caudado putâmen, no hipotálamo, no tubérculo olfatório, no núcleo accumbens, na substância nigra compacta e na área tegmentar ventral. Os D₃ são mais expresso nas ilhas de Calleja e em menor intensidade no núcleo septal, no hipotálamo e em diferentes regiões do cerebelo e do tálamo. Já os D₄ são encontrados principalmente no córtex frontal, na amígdala, no bulbo olfatório, no hipocampo e no mesencéfalo (COX et al., 1980; JACKSON; WESTLIND-DANIELSSON, 1994; MISSALE et al., 1998; VALLONE; PICETTI; BORRELLI, 2000).

Os neurônios dopaminérgicos no SNC se distribuem de maneira a organizar três sistemas dopaminérgicos principais: o nigroestriatal, o mesolímbico/mesocortical e o tuberoinfundibular (Figura 6). O sistema nigroestriatal contém os corpos celulares dos neurônios dopaminérgicos na substância nigra compacta e emitem suas projeções para o corpo estriado, predominantemente para o caudado putâmen, característica que lhe confere influência sobre a coordenação motora. O sistema mesolímbico/mesocortical possui os corpos celulares na área tegmentar ventral e os axônios projetam para diversas estruturas relacionadas com o sistema de recompensa. A via mesolímbica envia projeções para o núcleo accumbens, o tubérculo olfatório, núcleo amigdalóide e hipocampo enquanto que a mesocortical se projeta para o córtex pré-frontal, o córtex cingulado e o córtex perirrinal. Tais vias estão relacionadas com a função cognitiva, isto é, com a memória, o aprendizado, a motivação e a resposta emocional. Por fim, o sistema túbero-hipofisário, ou sistema tuberoinfundibular de neurônios dopaminérgicos, contém seus corpos celulares nos núcleos arqueado e periventricular do hipotálamo, do qual saem projeções para a eminência mediana e para a hipófise. Neste sistema em especial, a secreção da DA acontece na vasculatura do sistema porta-hipofisário e atua na regulação funcional do eixo hipotálamo-hipófise inibindo a secreção de prolactina (GREENSTEIN; GREENSTEIN, 2000; VALLONE; PICETTI; BORRELLI, 2000; BEN-JONATHAN; HNASKO, 2001; WISE, 2004; ARIAS-CARRIÓN et al., 2010; GARDNER; GREENSPAN, 2011; RANG, 2012).

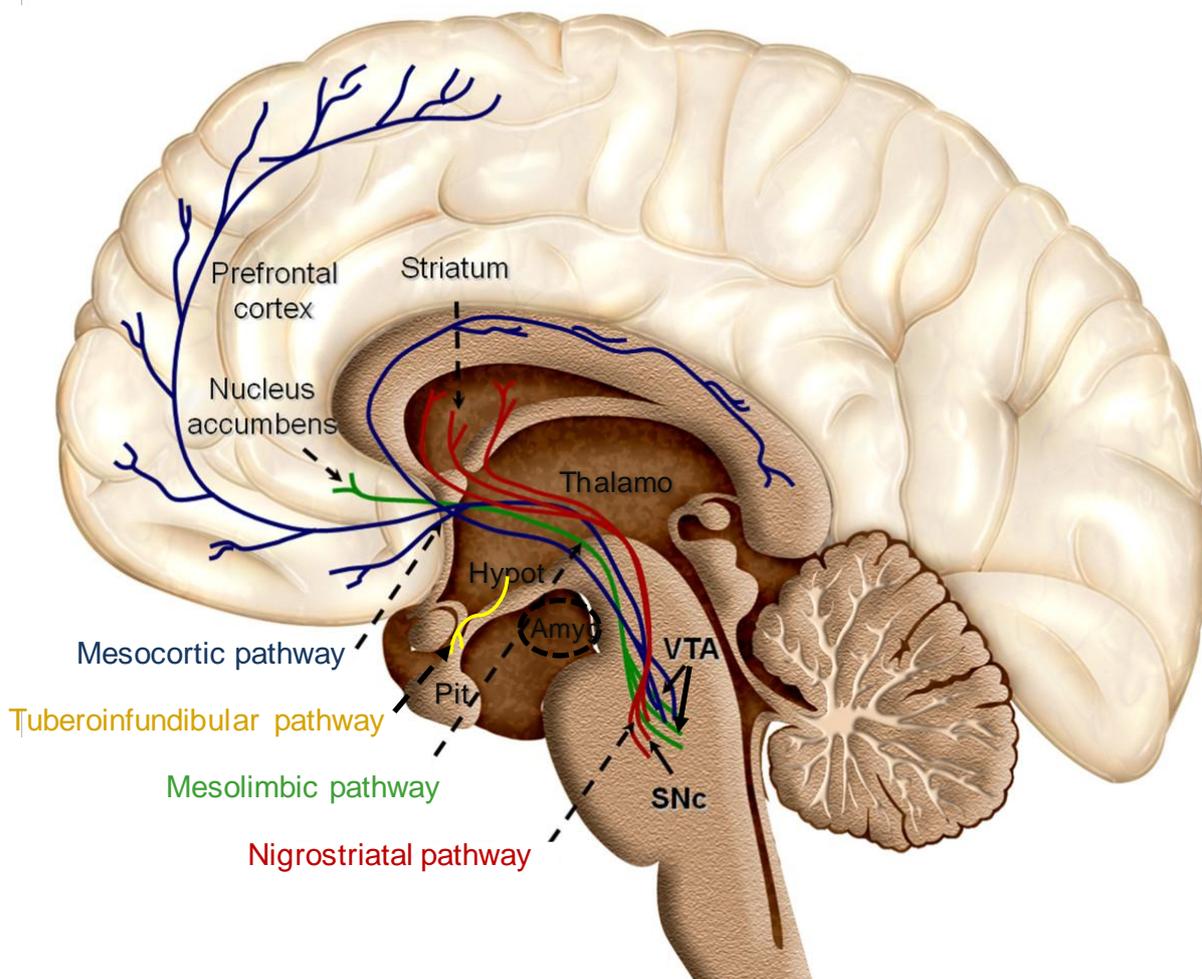


Figura 6. Ilustração das principais vias dopaminérgicas no sistema nervoso central. Hypot = hipotálamo; Pit = glândula pituitária; Amy = núcleo amigdalóide; VTA = área tegmentar ventral; SNc = substância nigra *compacta*. Adaptado de Arias-Carrión e colaboradores (2010).

1.5. SISTEMA DOPAMINÉRGICO, DESEMPENHO FÍSICO E TERMORREGULAÇÃO

O envolvimento da DA na capacidade de realizar o exercício físico começou a ser discutido na década de 70, quando foi observado que o uso do agonista dopaminérgico metanfetamina proporcionava aumento no tempo de exercício (GERALD, 1978). Na década de 80, esse achado foi reforçado com o trabalho de Heyes e colaboradores (1985) que, ao lesarem a via estriatal de ratos, observaram prejuízo no desempenho físico. Além disso, estudos comprovaram que o exercício físico resulta em aumentos gradativos da concentração de DA, e, por conseguinte, na de seus metabólitos em áreas cerebrais, como, por exemplo,

o núcleo accumbens, o caudado putâmen, o corpo estriado e o hipotálamo (FREED; YAMAMOTO, 1985; CHAOULOFF et al., 1987; HEYES; GARNETT; COATES, 1988).

Durante o exercício físico, o aumento nas concentrações de monoaminas no SNC parecem influenciar a termorregulação e o desempenho físico. Estudos demonstraram que durante o exercício físico o metabolismo dopaminérgico cerebral se eleva, assim como o serotoninérgico (NYBO; SECHER, 2004). Todavia, no ponto de fadiga, a concentração de DA reduz em direção aos níveis basais, enquanto que a de serotonina (5-HT) permanece elevada (BAILEY; DAVIS; AHLBORN, 1993; DAVIS; BAILEY, 1997; SOARES; COIMBRA; MARUBAYASHI, 2007; BALTHAZAR et al., 2009; CORDEIRO et al., 2014). Ademais, a elevação na concentração de 5-HT na APO se correlacionou negativamente com o desempenho físico (SOARES; COIMBRA; MARUBAYASHI, 2007; LEITE et al., 2010). Dessa maneira, o exercício gera alterações nas concentrações centrais de monoaminas, sendo que o aumento da razão 5-HT/DA é sugerido como um dos principais mecanismos da fadiga central, uma vez que tal elevação está envolvida com o aumento da percepção de esforço e a redução da motivação (CHAOULOFF, 1989; NEWSHOLME; BLOMSTRAND, 1996; FOLEY et al., 2006; SOARES; COIMBRA; MARUBAYASHI, 2007; LEITE et al., 2010).

A DA também exerce efeito inibitório tônico sobre o sistema nervoso simpático (GURRERA, 1999) e desempenha função importante sobre a termorregulação (COX; LEE, 1980). O aumento da disponibilidade hipotalâmica de DA potencializa os mecanismos de dissipação de calor em ratos durante o repouso (COX; KERWIN; LEE, 1978; COX et al., 1980), aumenta a tolerância ao exercício físico em ambiente quente (BRIDGE et al., 2003) e aumenta o tempo de exercício mesmo com o alcance de valores de $T_{interna}$ elevados (WATSON et al., 2005; HASEGAWA et al., 2008; ROELANDS et al., 2008a; BALTHAZAR et al., 2009), apesar de não aumentar a percepção de esforço ou o desconforto térmico (WATSON et al., 2005; ROELANDS et al., 2008a). Portanto, a liberação de DA não está envolvida apenas com respostas térmicas, mas também com mudanças comportamentais, como, por exemplo, a percepção de esforço.

O uso de bupropiona durante a realização de exercício físico em ambiente quente se relacionou com melhora do desempenho físico, acompanhado de maior elevação da T_{interna} (WATSON et al., 2005), assim como elevação da taxa de produção de calor e das concentrações de DA e noradrenalina (NA) (HASEGAWA et al., 2008). Tal efeito sobre o desempenho físico parece estar associado apenas ao sistema dopaminérgico, uma vez que o uso do fármaco reboxetina (inibidor seletivo da recaptação de NA) em humanos não modificou o desempenho, como também não alterou as respostas termorregulatórias (ROELANDS et al., 2008b).

Balthazar e colaboradores (2009) também demonstraram que a injeção intracerebroventricular de DA em roedores proporcionou aumento da tolerância ao calor e do desempenho físico durante o exercício progressivo em ambiente termoneutro. Esses efeitos induzidos pela DA parecem ter sido mediados pelos receptores D_1 e D_2 , dado que o tratamento com antagonistas seletivos (SCH-23390 e Eticloprida, respectivamente) antecipou a fadiga e elevou a taxa de aquecimento corporal. O prejuízo verificado no desempenho físico foi mais acentuado após o bloqueio dos receptores dopaminérgicos D_1 . Os dados térmicos durante o período de recuperação pós-exercício indicaram hipertermia persistente, sugerindo redução da dissipação de calor, bem como aumento da taxa metabólica, e conseqüentemente, maior produção de calor (BALTHAZAR et al., 2010). Com isso, os resultados sugerem que a dinâmica entre o aumento da T_{interna} e o calor acumulado pode ter contribuído para a fadiga precoce, além de evidenciar a participação do sistema dopaminérgico na modulação térmica e no desempenho físico.

1.6. JUSTIFICATIVA

Como discutido anteriormente, a execução do exercício físico é estímulo relevante para a ativação de áreas cerebrais relacionadas com o controle da T_{interna} , bem como causa modificações na concentração de DA no SNC, a qual está envolvida com a melhora do desempenho físico.

Estudos demonstraram que durante o exercício de moderada a alta intensidade ocorre expressiva ativação neuronal do MPO, do SON e do PVN

(SOYA et al., 2007; LIMA et al., 2014). Corroborando esses achados, Santiago e colaboradores (2016) também demonstraram que a ativação neuronal no MnPO, no MPO e no PVN foi maior nos animais que passaram por período de treinamento ao exercício do que aqueles animais que não foram treinados. Esta maior ativação se relacionou diretamente com a melhora do desempenho físico desses animais.

Nessa mesma direção, o papel do sistema dopaminérgico sobre o desempenho físico está bem estabelecido, uma vez que o uso de agonista dopaminérgicos resulta em aumento do tempo de corrida dos animais durante o teste progressivo em esteira em ambiente termoneutro (BALTHAZAR et al., 2009), bem como melhora o desempenho físico de humanos (ROELANDS et al., 2008a; WATSON et al., 2005) e roedores (HASEGAWA et al., 2008) em ambiente quente. Quando os receptores dopaminérgicos foram bloqueados, observou-se que o uso do antagonista seletivo dos receptores D₁ (SCH-23390) causou redução severa do desempenho físico em ambiente termoneutro além de aumentar a taxa de aquecimento corporal e ocasionar hipertermia persistente no período pós-exercício (BALTHAZAR et al., 2010). Apesar de estudos anteriores utilizando o método de cromatografia líquida de alta eficiência terem mostrado que as concentrações de DA e de DOPAC, em áreas cerebrais como a APO e o hipotálamo anterior, são modificadas durante o exercício físico (HASEGAWA et al., 2008; BALTHAZAR et al., 2009; LEITE et al., 2010), não está bem elucidado quais seriam os núcleos hipotalâmicos relacionados com a redução do desempenho físico e com as respostas termorregulatórias verificados após o bloqueio dos receptores dopaminérgicos D₁.

Assim, tendo em vista que a elevação da DA central aumenta o tempo de exercício até a fadiga e que atenua a percepção de esforço, mesmo com a elevação da T_{interna} e do acúmulo de calor, o presente trabalho propôs verificar o efeito da modulação do sistema dopaminérgico na ativação neuronal de áreas hipotalâmicas que são ativadas em resposta ao exercício físico, bem como estão envolvidas no desempenho físico e no balanço térmico.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar se a transmissão dopaminérgica central está associada à ativação neuronal de núcleos hipotalâmicos envolvidos no desempenho físico e na termorregulação durante o exercício submáximo até a fadiga.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Verificar o efeito do bloqueio do receptor dopaminérgico D₁ central na ativação neuronal dos núcleos MnPO, MPO, SON e PVN de ratos após o exercício submáximo até a fadiga
- Verificar o efeito do bloqueio do receptor dopaminérgico D₁ central sobre o desempenho físico e as respostas termorregulatórias de ratos durante o exercício submáximo até a fadiga.
- Verificar o efeito do bloqueio do receptor dopaminérgico D₁ central sobre as respostas termorregulatórias de ratos durante o período de recuperação pós-exercício submáximo até a fadiga.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. ANIMAIS

Foram utilizados ratos adultos da linhagem Wistar, com massa corporal entre 200 – 370 g, desde a sua aquisição até a eutanásia dos mesmos, e provenientes do Centro de Bioterismo (CEBIO) do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais (ICB/UFMG). Os animais foram mantidos em gaiolas individuais, alojadas em sala com temperatura ambiente entre 23 ± 2 °C, sob um ciclo claro-escuro de 12-12h, sendo as luzes acessas às 7h e apagadas às 19h. Os mesmos tiveram livre acesso à ração e água.

O trabalho foi realizado em concordância com as normas estabelecidas pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFMG (CEUA / UFMG), protocolo nº 170/2015.

3.2. GRUPOS EXPERIMENTAIS

Os animais foram divididos em dois grupos experimentais, EXERCÍCIO (n=15) e REPOUSO (n=10), com microinjeção intracerebroventricular (i.c.v.) de SALINA (SAL) ou de SCH-23390 (antagonista dos receptores dopaminérgicos D₁, SCH), conforme a figura abaixo:

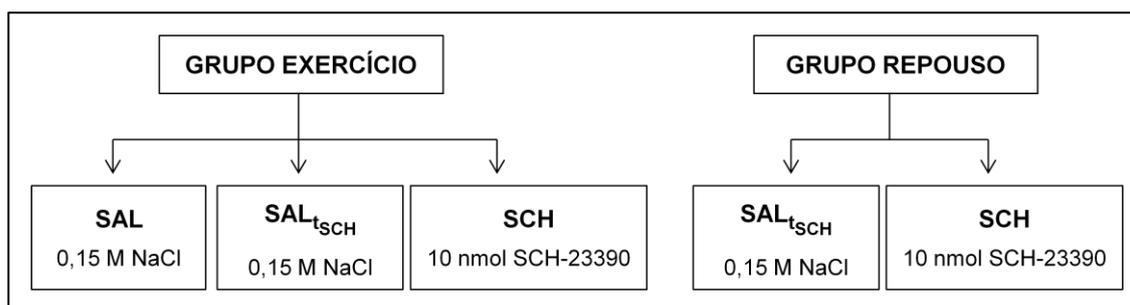


Figura 7. Representação esquemática dos grupos experimentais. SAL_{tSCH}: animais salina com o exercício interrompido na mesma duração do exercício em SCH.

3.3. PROCEDIMENTOS GERAIS

Todas as etapas desde a aquisição dos animais até o protocolo experimental foram realizadas para cada grupo de acordo com os esquemas ilustrados na figura 8.

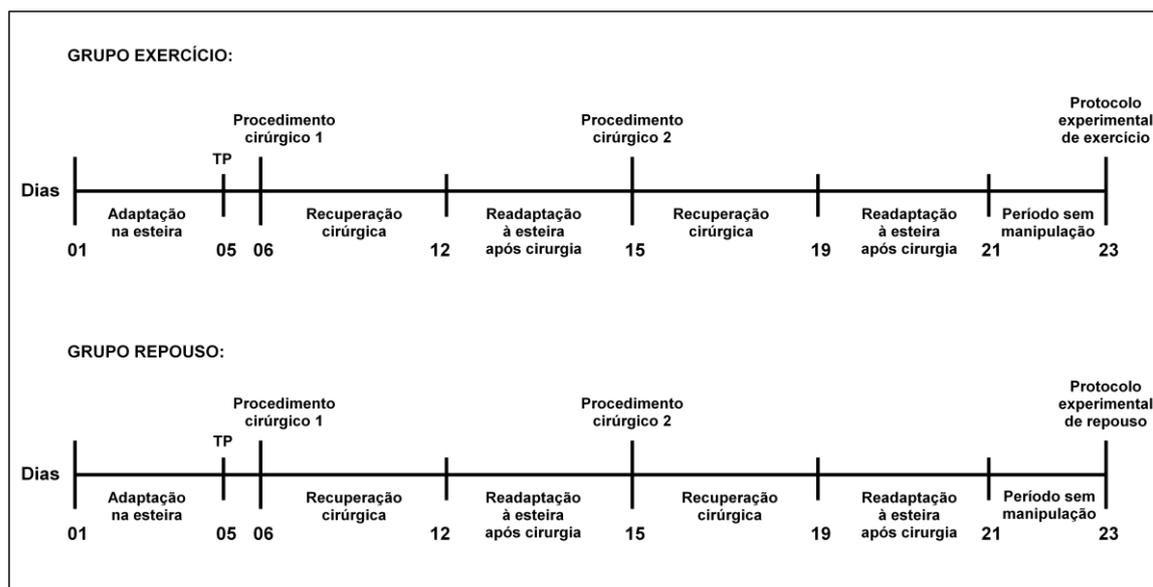


Figura 8. Representação esquemática dos procedimentos gerais para os grupos exercício e repouso. TP: teste progressivo na esteira.

3.3.1. Adaptação ao exercício na esteira

Na primeira semana, os animais foram submetidos a sessões de adaptação ao exercício físico em esteira motorizada (Gaustec, Contagem, MG, Brasil) para que os mesmos se adaptassem ao local de experimento e à direção da corrida (LACERDA; MARUBAYASHI; COIMBRA, 2005; PRÍMOLA-GOMES et al., 2007). O protocolo de adaptação consistiu de quatro dias consecutivos de sessão diária de exercício, na qual os animais foram colocados na esteira e permaneceram em repouso durante cinco minutos e em seguida correram por mais cinco minutos. A corrida iniciou com velocidade de $10 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$ no primeiro dia até atingir $15 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$ no último dia de adaptação, com inclinação de 5° da esteira. A estimulação elétrica foi definida em $0,4 \text{ mA}$ apenas para causar pequeno desconforto no animal, e, assim, estimulá-lo a sair da grade de choque e iniciar a atividade na esteira. No quinto dia, os animais foram submetidos ao teste

respectivamente, no volume de 0,15 mL para cada 100 g de massa corpórea, via intraperitoneal para todos os procedimentos cirúrgicos.

Finalizado os procedimentos cirúrgicos, os animais receberam uma dose de antibiótico (48.000 UI/kg, Pentabiótico Veterinário, Fort Dodge) no volume de 0,2 mL via intramuscular e de analgésico / anti-inflamatório (1,0 mg/kg, Banamine, Schering-Plough, S/A) no volume de 0,02 mL via subcutânea. Após os procedimentos cirúrgicos, os animais foram alojados em gaiolas individuais e mantidos no biotério.

3.3.2.1. *Procedimento cirúrgico 1*

Após a semana de adaptação na esteira, os animais foram submetidos a cirurgia para o implante da cânula-guia no ventrículo cerebral lateral direito. Foi realizada a tricotomia e a assepsia da porção superior da cabeça e, em seguida, foi feita incisão na pele e no tecido subcutâneo ao longo da sutura sagital. Os tecidos adjacentes foram retraídos e o periósteo foi separado e extirpado por meio da aplicação de anestésico local (xilocaína com vasoconstritor, solução de cloridrato de lidocaína 2% e de adrenalina 1:200000; no volume de 0,1 mL) para provocar vasoconstrição da área e permitir o afastamento do periósteo sem sangramento do mesmo (WANNER, 2006). Com isso, o bregma e o lambda foram expostos uma vez que são referências anatômicas utilizadas na determinação das coordenadas estereotáxicas.

Após a exposição da calota craniana, os animais foram fixados em estereotáxico para animais de pequeno porte (David Kopf Instruments, M-900, Tujunga, CA, USA). As coordenadas utilizadas para o implante da cânula-guia (22G e 16 mm de comprimento) foram baseadas no atlas de Paxinos e Watson (2005): 1,5 mm posterior ao bregma (ântero-posterior); 2,5 mm lateral a partir da linha média (latero-lateral); 3,2 – 3,6 mm de profundidade a partir da calota craniana (dorso-ventral). O correto posicionamento da cânula no ventrículo cerebral lateral direito foi verificado pelo deslocamento dos meniscos da coluna de solução salina (NaCl 0,9%) contida em um manômetro de vidro conectado à cânula-guia (ANTUNES-RODRIGUES; MCCANN, 1970). A craniotomia para o

implante da cânula-guia e dos parafusos (para a fixação da mesma) foi realizada com o auxílio de broca odontológica, sendo o conjunto fixado com acrílico polimerizante. Para evitar a obstrução da cânula, esta foi protegida com mandril feito de aço (LIMA; COIMBRA; MARUBAYASHI, 1998). O período de recuperação dos animais foi no mínimo de cinco dias ou até recuperarem a massa corporal pré-cirúrgica.

3.3.2.2. *Procedimento cirúrgico 2*

Após o primeiro período de readaptação pós-cirurgia à esteira, os animais foram submetidos a cirurgia de implante do sensor de T_{interna} na cavidade peritoneal.

Os animais anestesiados foram posicionados em decúbito dorsal e foi realizada a tricotomia da região abdominal com assepsia da área. Foi feita incisão ventral mediana na pele de aproximadamente 2 cm, seguida de outra incisão sobre a linha alba do músculo reto abdominal para a inserção do sensor de T_{interna} (Mini Mitter Company Inc., E-Mitter, série G2, 15,5 mm x 6,5 mm, 1,1 mg, OR, USA) na cavidade peritoneal. O sensor foi inserido e suturado junto à fáscia do músculo reto abdominal para evitar o seu deslocamento dentro da cavidade. Finalizado o implante do sensor, o peritônio e a pele foram suturados (WANNER, 2006). Os animais se recuperaram desta cirurgia por um período mínimo de três dias ou até recuperarem a massa corporal pré-cirúrgica.

3.3.3. **Readaptação na esteira após as cirurgias**

Após o período de recuperação da cirurgia de implante da cânula-guia no ventrículo cerebral lateral direito os animais foram levados à esteira por três dias consecutivos para readaptação à corrida. A prática neste laboratório tem mostrado que alguns animais perdem o padrão de corrida após a cirurgia de implante da cânula cerebral.

O modelo de readaptação seguiu parâmetros similares àqueles de adaptação descrito anteriormente, distinguindo apenas na duração, uma vez que neste foram três dias. No segundo dia, antes de iniciar o período de repouso, o

sensor de temperatura da pele da cauda (T_{cauda}) (Yellow Spring Instruments – YSI, Dayton, OH, EUA, modelo 409-B) foi fixado com esparadrapo na base da cauda para que os animais se familiarizassem com este procedimento.

Na fase de readaptação após a cirurgia de implante do sensor de T_{interna} , os animais foram levados à esteira por dois dias consecutivos. Neste modelo de readaptação os animais permaneceram o mesmo tempo na esteira, contudo a velocidade foi progressivamente elevada de 13 a 15 $\text{m}\cdot\text{min}^{-1}$ durante dois dias. Como na primeira fase de readaptação, o sensor de T_{cauda} foi fixado nos animais imediatamente antes de serem colocados na esteira.

3.4. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

PROTOCOLO 1

Ao final do período sem manipulação do animal (Figura 8), após a segunda readaptação pós-cirurgia, os animais iniciaram os experimentos de exercício submáximo até a fadiga na esteira nos quais foram avaliados os parâmetros termorregulatórios e a ativação neuronal.

Cada animal passou por duas ou três sessões experimentais de acordo com a distribuição balanceada realizada anteriormente aos experimentos (Tabela 2), sendo elas: microinjeção i.c.v. de 2 μL de solução NaCl [0,15 M] (SAL, salina) ou 2 μL de solução de SCH-23390 [5×10^{-3} M = 10 nmol] (SCH) ou de SAL, novamente, sendo nesse caso estabelecida a mesma duração do exercício físico da situação SCH (SAL_{tsch}). O intervalo entre as três situações experimentais foi de no mínimo 72 horas.

A dose escolhida de SCH-23390 foi baseada em curva de dose-resposta testada em experimentos anteriores (BALTHAZAR, 2008).

Tabela 2: Distribuição balanceada dos animais no protocolo experimental 1.

ORDEM BALANCEADA - GRUPO EXERCÍCIO				
Animais	SAL x SCH23390			Última sessão (perfusão)
	Sessão 1	Sessão 2	Sessão 3	
1	SCH	SAL	SAL _{tSCH}	SAL _{tSCH}
2	SAL	SCH		SCH
3	SCH	SAL _{tSCH}	SAL	SAL
4	SAL	SCH	SAL _{tSCH}	SAL _{tSCH}
5	SAL	SCH		SCH
6	SCH	SAL		SAL
7	SCH	SAL	SAL _{tSCH}	SAL _{tSCH}
8	SAL	SCH		SCH
9	SCH	SAL _{tSCH}	SAL	SAL
10	SCH	SAL	SAL _{tSCH}	SAL _{tSCH}
11	SAL	SCH		SCH
12	SCH	SAL		SAL
13	SAL	SCH	SAL _{tSCH}	SAL _{tSCH}
14	SAL	SCH		SCH
15	SCH	SAL _{tSCH}	SAL	SAL

Os animais foram transportados do biotério para o laboratório em suas caixas e foram pesados. Todos os experimentos foram realizados no período da manhã, entre 7-13 horas, e em sala com temperatura ambiente (T_a) controlada (23 ± 2 °C). A figura 9 ilustra as linhas de tempo seguidas neste protocolo experimental.

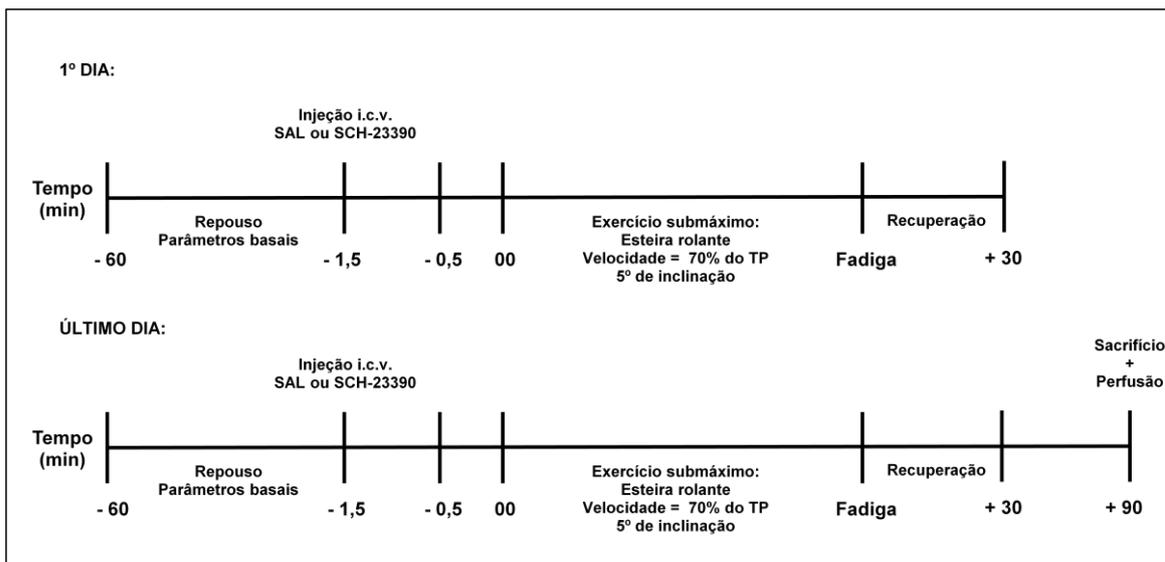


Figura 9. Representação esquemática do protocolo experimental para o grupo exercício.

Na primeira situação experimental, o termistor de cauda foi fixado com esparadrapo sobre a região lateral da cauda do animal, a uma distância de 1-2 cm da base da cauda, e este conectado a termômetro de precisão (Yellow Springs Instruments, modelo 4.600 Precision Thermometer, OH, EUA). A agulha injetora da droga foi conectada à cânula-guia e à seringa de 5 μ L (Hamilton Company Nevada, EUA) por meio do tubo de polietileno (PE10). Após esta manipulação o animal foi colocado na esteira e deixado em repouso. Dessa maneira, o animal foi manipulado somente neste início do experimento.

Os dados da T_{interna} foram obtidos a cada 10 segundos por meio de telemetria (modelo ER 4.000 Receiver, Mini Mitter Co.) e de sistema de aquisição de dados (Programa computacional Vita View, Mini-Mitter). Os dados da T_{cauda} foram colhidos a cada minuto por meio do sensor de T_{cauda} .

O animal foi colocado em repouso na esteira por um tempo mínimo de 60 minutos, no qual foram monitoradas a T_{interna} , a T_{cauda} e a T_{a} . Após a estabilização da T_{interna} por um período mínimo de 20 minutos, foi realizada a microinjeção de 2 μ L da solução durante 1 minuto. Posterior à microinjeção, esperou-se mais 30 segundos antes do início do exercício. Em seguida, a esteira foi ligada na velocidade correspondente a 70% do teste progressivo com inclinação de 5% e estímulo elétrico de 0,4 mA.

O exercício submáximo na esteira foi realizado até a fadiga, exceto para a situação SAL_{tsch} cuja duração do exercício foi a mesma alcançada na situação SCH. Após a fadiga, a esteira foi desligada e o animal permaneceu na mesma por mais 30 minutos (período de recuperação pós-exercício), com continuidade dos registros das $T_{interna}$, T_{cauda} e T_a . Ao final deste período, o animal foi retirado da esteira, o termistor de cauda e a agulha injetora foram desconectados e o animal levado de volta para o biotério.

Na última sessão experimental, o animal passou pelos mesmos procedimentos experimentais. Contudo, após 90 minutos do término do exercício, o animal foi anestesiado e submetido a eutanásia através de perfusão transcardíaca para retirada do tecido cerebral e posterior análise imunohistoquímica do mesmo.

PROTOCOLO 2

Após a readaptação pós-cirurgia e o período sem manipulação (Figura 8), os animais foram submetidos aos experimentos de repouso na esteira seguindo os mesmos critérios de manuseio e procedimentos experimentais mencionados no protocolo 1. A figura 10 ilustra as linhas de tempo seguidas no protocolo experimental 2.

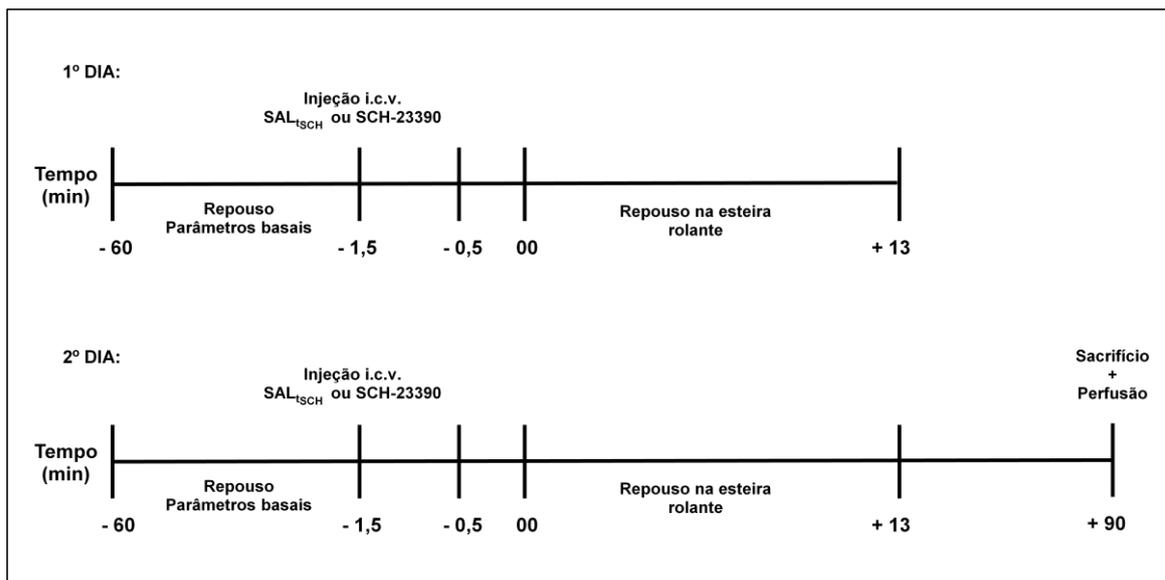


Figura 10: Representação esquemática do protocolo experimental para o grupo repouso.

Cada animal passou por duas situações experimentais (Tabela 3), a saber: microinjeção i.c.v. de 2 μL de solução NaCl [0,15 M] (SAL_{tSCH}) ou 2 μL de solução de SCH-23390 [5×10^{-3} M = 10 nmol] (SCH). Em ambas as situações, o tempo de repouso após a injeção foi correspondente à média da duração do exercício até a fadiga dos animais na situação SCH (13 minutos) do protocolo 1. Todos os demais procedimentos foram realizados também de acordo com o protocolo 1.

Tabela 3: Distribuição balanceada dos animais no protocolo experimental 2.

ORDEM BALANCEADA - GRUPO REPOUSO			
Animais	SAL x SCH23390		Última sessão (perfusão)
	Sessão1	Sessão2	
1	SCH	SAL _{tSCH}	SAL _{tSCH}
2	SAL _{tSCH}	SCH	SCH
3	SCH	SAL _{tSCH}	SAL _{tSCH}
4	SAL _{tSCH}	SCH	SCH
5	SCH	SAL _{tSCH}	SAL _{tSCH}
6	SAL _{tSCH}	SCH	SCH
7	SCH	SAL _{tSCH}	SAL _{tSCH}
8	SAL _{tSCH}	SCH	SCH
9	SCH	SAL _{tSCH}	SAL _{tSCH}
10	SAL _{tSCH}	SCH	SCH

3.5. IMUNOHISTOQUÍMICA

3.5.1. Eutanásia, fixação, congelamento e corte do tecido cerebral

Noventa minutos após o final da última sessão experimental do exercício submáximo até a fadiga ou do repouso, os animais foram anestesiados e submetidos à perfusão transcardíaca com o uso de bomba peristáltica (fluxo de 10 mL.min⁻¹) através da canulação da aorta ascendente, seguida da ligadura da aorta abdominal (para priorizar a circulação superior) e de corte no átrio direito (para permitir a exsanguinação). Foram infundidos 100 mL de tampão fosfato salina 0,01 M (PBS 0,01 M) heparinizado (5 UI/mL, HEPAMAX-S, Blausigel, SP, Brasil), em temperatura ambiente. Imediatamente após, foram infundidos 400 mL de solução de paraformaldeído 4% em tampão fosfato 0,1 M (PFA 4%) durante aproximadamente 30 minutos para fixação dos tecidos. Concluída a perfusão, os cérebros foram cuidadosamente removidos e pós-fixados em PFA 4% a 4°C por 2 horas. Em seguida, foram colocados em 20 mL de solução de sacarose 30%

diluída em tampão fosfato 0,1 M (PB 0,1 M) a 4°C até a saturação. O tempo de saturação foi de aproximadamente 72 horas. Após esse período necessário para a crioproteção, os cérebros foram congelados por meio da imersão em isopentano 99% (C₅H₁₂) entre -50 e -40°C durante 1 minuto e então armazenados em freezer -80°C até serem fatiados no criostato.

O Atlas de Paxinos e Watson (2005) foi usado como referência para a obtenção dos cortes em quatro secções coronais seriadas com 40 µm de espessura. As seguintes regiões cerebrais foram seccionadas: núcleo pré-óptico mediano (MnPO), núcleo pré-óptico medial (MPO), núcleo supra-óptico (SON) e núcleo paraventricular do hipotálamo (PVN). Os cortes foram incubados em solução crioprotetora a -20°C, onde permaneceram até a realização da imunohistoquímica.

3.5.2. Imunohistoquímica de marcação simples

Os cortes foram submetidos a protocolo de marcação para a proteína c-Fos, marcador indireto da atividade neuronal, através do método imunohistoquímico *free-floating*.

Previamente, as fatias de cérebros foram lavadas com PBS (0,01 M) em 10 sessões de 5 minutos, seguido de incubação com glicina (0,1 M) em PBS (0,01 M) por 10 minutos e nova lavagem em PBS (0,01 M) por 5 minutos. Seguiu-se com a incubação em H₂O₂ 1% em PBS (0,01 M) por 30 minutos e posterior lavagem com PBS (0,01 M) por 5 sessões de 5 minutos. Foi feita incubação com Triton X-100 0,4% em PBS (0,01 M) por 30 minutos, seguido de 3 sessões de lavagem de 5 minutos com PBS (0,01 M). As fatias foram, então, incubadas com albumina de soro bovino (BSA) 2% em PBS (0,01 M) por 1 h e, ao término, com o anticorpo primário anti-c-Fos produzido em coelho (Ab5, Calbiochem, 1:10.000) diluído em PBS 0,01 M contendo Triton X-100 0,3%, BSA 1% (solução também utilizada para diluição do anticorpo secundário) por 48 h a 4°C. Esperado esse tempo, foi realizada lavagem das fatias com PBS (0,01M) por 10 sessões de 5 minutos, seguido de incubação com o anticorpo secundário biotilado anti-IgG produzido em cavalo (Vectastain ABC kit, Universal, 1:600, Vector Laboratories)

por 2 h. As fatias foram lavadas com PBS (0,01 M) por mais 8 sessões de 5 minutos e incubados com complexo AB (Avidina DH e Peroxidase Biotinilado, 1:400, Vectastain ABC kit, Vector Laboratories) diluído em PBS (0,01 M) por 1 h. Posteriormente, 3 sessões de 5 minutos de lavagem com PBS (0,01 M) foram feitas, seguidas de 3 sessões de 5 minutos de lavagem com tampão acetato de sódio 0,175 M. As fatias foram, então, tratadas com solução contendo 0,2 mg.mL⁻¹ de 3,3-diaminobenzidina (DAB), 25 mg.mL⁻¹ de sulfato de níquel e 0,083 µL.mL⁻¹ de H₂O₂ a 30% em tampão acetato (0,175 M) seguido de lavagem com tampão acetato por 3 sessões de 5 minutos cada e lavagem com PBS (0,01 M) por 3 sessões de 5 minutos. Os cortes foram montados em lâminas gelatinizadas, que passaram pelo processo de secagem e colagem de lamínulas utilizando Entellan (Merck).

Os cortes foram fotografados em campo claro de iluminação com objetiva de 20X. Para a análise das estruturas encefálicas envolvidas foi quantificado o número de neurônios imunorreativos a c-Fos em 120 µm de cada região cerebral avaliada, bilateralmente. As coordenadas de cada região foram definidas segundo o Atlas Paxinos e Watson (2005) a partir do bregma, conforme as coordenadas abaixo:

- MnPO: 0,00 a -0,12 mm;
- MPO: -0,24 a -0,36 mm;
- SON: -0,60 a -1,08 mm;
- PVN: -1,72 a -1,92 mm.

3.6. VARIÁVEIS DE ANÁLISE

3.6.1. Variáveis medidas

- **Temperatura corporal interna (T_{interna}):** medida intraperitonealmente, em °C, durante as situações de exercício e de repouso em esteira.
- **Temperatura da pele da cauda (T_{cauda}):** medida na base da cauda, em °C, durante as situações de exercício e de repouso em esteira.

- **Tempo de exercício (TE) ou de repouso (TR):** medido em minutos, correspondeu ao intervalo de tempo entre o início e o final da sessão experimental.
- **Atividade neuronal:** medida segundo o número de neurônios imunorreativos a c-Fos por campo no MnPO, no MPO, no SON e no PVN.

3.6.2. Variáveis calculadas

A partir dos dados registrados foram determinados:

- **Trabalho (W, J) = $m \cdot g \cdot v \cdot \text{sen}_\alpha \cdot \text{TE}$** , sendo m = massa corporal em kg; g = força da gravidade ($9,8 \text{ m} \cdot \text{s}^{-2}$); v = velocidade da esteira ($\text{m} \cdot \text{min}^{-1}$); sen_α = ângulo de inclinação da esteira; TE = tempo de exercício até a fadiga (min); (DRUMMOND et al., 2016).
- **Taxa de aquecimento corporal (TAC, $^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$) = $\Delta T_{\text{interna}} / \text{TE}_d$** , sendo $\Delta T_{\text{interna}}$ = variação da temperatura corporal interna ($T_{d/f} - T_i$); $T_{d/f} = T_{\text{interna}}$ no final da fase dinâmica / final do repouso; $T_i = T_{\text{interna}}$ inicial, medida no 0 min do exercício / início do repouso; TE_d = tempo de exercício na fase dinâmica (LACERDA; MARUBAYASHI; COIMBRA, 2005; LEITE et al., 2006).
- **Acúmulo de calor (AC, cal) = $(\Delta T_{\text{interna}}) \cdot m \cdot c$** , sendo m = massa corporal em gramas; c = calor específico dos tecidos do animal ($0,826 \text{ cal} \cdot \text{g}^{-1} \cdot ^\circ\text{C}^{-1}$) (LACERDA; MARUBAYASHI; COIMBRA, 2005; LEITE et al., 2006).
- **Índice de dissipação de calor = $T_{\text{cauda}} - T_a / T_{\text{interna}} - T_a$** , sendo a T_a correspondente à temperatura no interior da esteira ($^\circ\text{C}$). Tal índice varia de 0 (vasoconstrição máxima; temperatura da pele igual à temperatura ambiente) a 1 (vasodilatação máxima; temperatura da pele igual à temperatura interna) e avalia as repostas termorregulatórias para

dissipação de calor na cauda de ratos (ROMANOVSKY; BLATTEIS, 1996; ROMANOVSKY; IVANOV; SHIMANSKY, 2002; PRÍMOLA-GOMES et al., 2007).

- **Índice térmico ($^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}$)**

Tal índice foi calculado como a área sob a curva da T_{interna} e da T_{cauda} e usado para verificar possíveis diferenças térmicas entre as situações de repouso e de exercício submáximo (DONATTI et al., 2014; NOGUEIRA et al., 2017).

- **Limiar de dissipação cutânea de calor**

O limiar de dissipação cutânea de calor avalia os mecanismos centrais para dissipação de calor e para calculá-lo, a priori, foi calculada a média da T_{cauda} dos animais para cada situação experimental do grupo exercício. Em seguida foi definido o menor valor da T_{cauda} (o nadir), para cada situação. Após definir o nadir, o primeiro minuto do exercício no qual o valor da T_{cauda} foi diferente do nadir ($p < 0,05$) foi registrado. Então, foi realizada a média da T_{interna} dos animais correspondente ao primeiro minuto diferente do nadir para cada situação experimental. O valor obtido foi equivalente ao limiar para a dissipação cutânea do calor (Adaptado DRUMMOND et al., 2016).

- **Sensibilidade da dissipação cutânea de calor**

A sensibilidade da dissipação cutânea de calor avalia a modulação periférica de dissipação de calor e foi determinada através da regressão linear dos cinco valores de T_{cauda} e T_{interna} correspondentes ao aumento exponencial da T_{cauda} após o alcance do limiar para dissipação de calor para cada animal nas três situações experimentais do exercício (Adaptado DRUMMOND et al., 2016).

3.6.3. Variáveis de controle

- **Massa corporal:** parâmetro de verificação da recuperação cirúrgica e estado de saúde e de hidratação dos mesmos durante os experimentos.
- **Temperatura ambiente (T_a):** a temperatura ambiente foi mantida em 23 ± 2 °C durante os protocolos experimentais.

3.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados estão apresentados como média \pm erro padrão da média (E.P.M.). A T_{interna} , a T_{cauda} e o índice de dissipação de calor foram analisados por ANOVA *two-way* com medidas repetidas. Os dados referentes ao TE, ao W, à taxa de aquecimento corporal, ao acúmulo de calor, ao índice térmico, ao limiar e à sensibilidade da dissipação cutânea de calor e à imunorreatividade foram analisados por ANOVA *one-way*. Quando foram observadas diferenças na variância dos fatores ou interação entre os mesmos, foi realizado o teste *post-hoc* de Tukey. Os dados também foram comparados utilizando teste *t-Student* pareado ou não pareado, de acordo com sua aplicabilidade. O nível de significância foi estabelecido em 5%.

4. RESULTADOS

4.1. EFEITO DO BLOQUEIO DOS RECEPTORES D₁ CENTRAIS SOBRE A T_{INTERNA}, A T_{CAUDA} E O ÍNDICE TÉRMICO DE ANIMAIS DURANTE REPOUSO.

O bloqueio dos receptores dopaminérgicos D₁ com SCH-23390 não causou modificações na T_{interna} (0 min.: 37,28 ± 0,06 °C, SALt_{SCH}, vs 37,14 ± 0,07, SCH, p > 0,05; 13 min.: 37,43 ± 0,08 °C, SALt_{SCH}, vs 37,32 ± 0,14 °C, SCH, p > 0,05) e nem na T_{cauda} (0 min.: 27,73 ± 0,51 °C, SALt_{SCH}, vs 27,99 ± 0,53 °C, SCH, p > 0,05; 13 min.: 27,79 ± 0,51 °C, SALt_{SCH}, vs 28,21 ± 0,55 °C, SCH, p > 0,05) quando comparado microinjeção de salina. Tal resposta é reforçada pelo índice térmico que mostrou não haver alterações nos mecanismos de produção e dissipação de calor durante ambas as situações experimentais no repouso (Índice térmico relativo à T_{interna}: 1,92 ± 1,13 °C.min, SALt_{SCH}, vs 1,37 ± 0,90 °C.min, SCH, p > 0,05; Índice térmico relativo à T_{cauda}: -1,74 ± 3,70 °C.min, SALt_{SCH}, vs 1,94 ± 4,03 °C.min, SCH, p > 0,05) (Figura 11).

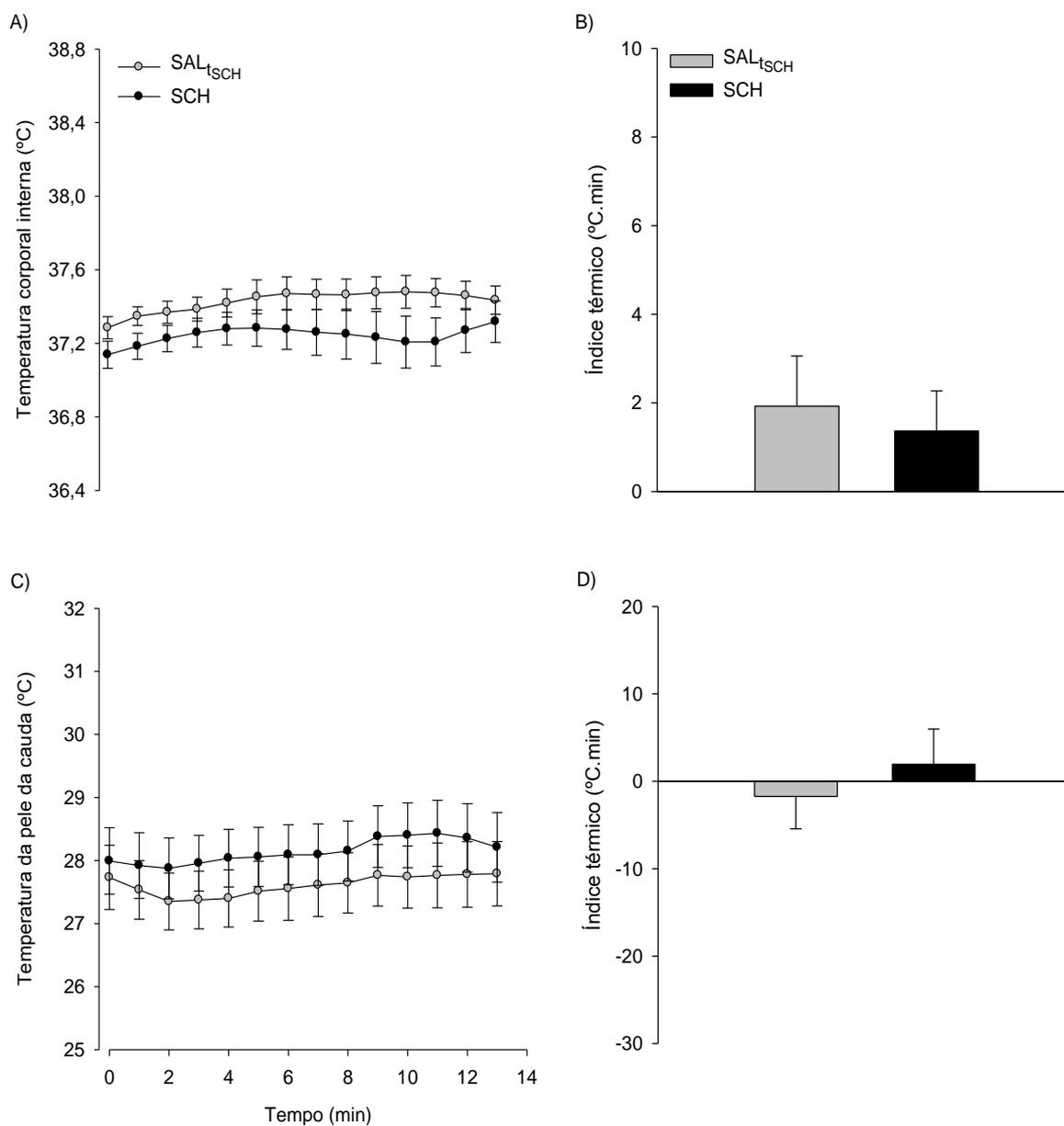


Figura 11. Efeito da injeção i.c.v. de SCH-23390 (10 nmol, 2 μ L, SCH) ou de NaCl 0,15 M (2 μ L, SAL_{tSCH}) sobre a temperatura corporal interna (T_{interna} , A), a temperatura da pele da cauda (T_{cauda} , C) e o índice térmico referente à área sob a curva da T_{interna} (B) e da T_{cauda} (D) durante o repouso. $p > 0,05$. SAL_{tSCH}, $n=10$; SCH, $n=10$. Dados expressos como média \pm EPM.

4.2. EFEITO DO BLOQUEIO DOS RECEPTORES D_1 CENTRAIS SOBRE O TEMPO DE EXERCÍCIO E O TRABALHO DE ANIMAIS DURANTE O EXERCÍCIO SUBMÁXIMO ATÉ A FADIGA.

O tratamento com SCH-23390 causou redução de 78% no tempo de exercício e no trabalho realizado pelos animais durante o exercício submáximo (TE: $59,20 \pm 7,13$ min, SAL, vs $13,00 \pm 1,25$ min, SCH, $p < 0,001$; W: $241,14 \pm 29,35$ J, SAL, vs $51,28 \pm 4,64$ J, SCH, $p < 0,05$) (Figura 12).

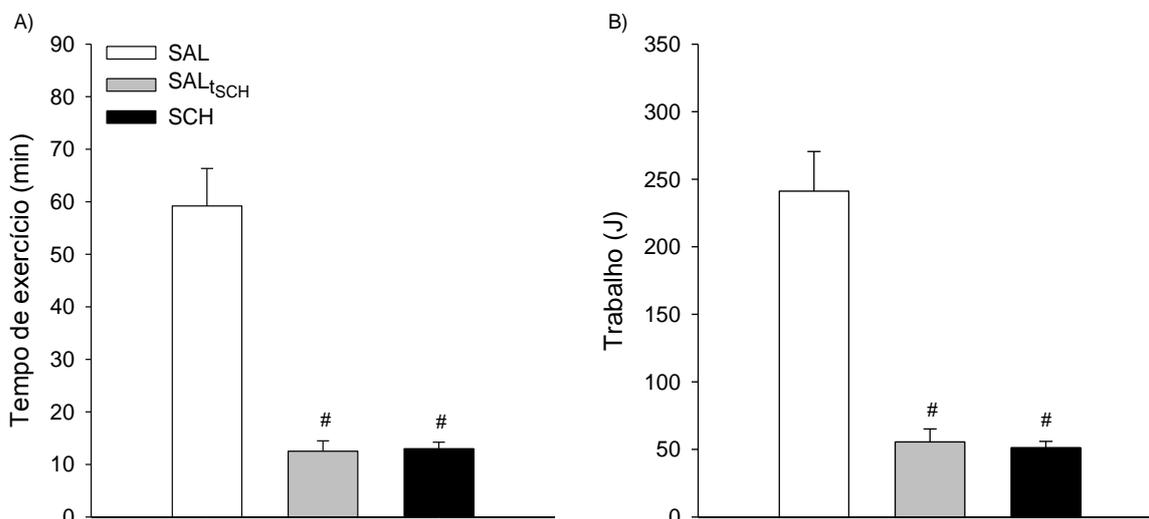


Figura 12. Efeito da injeção i.c.v. de SCH-23390 (10 nmol, 2 μ L, SCH) ou de NaCl 0,15 M (2 μ L, SAL e SAL_{tSCH}) sobre o tempo de exercício submáximo (A) e o trabalho realizado (B) até a fadiga (SAL e SCH) ou até a sua interrupção (SAL_{tSCH}). #, $p < 0,05$ SAL vs SAL_{tSCH} e SCH. SAL, n=15, SAL_{tSCH}, n=8; SCH, n=15. Dados expressos como média \pm EPM.

4.3. EFEITO DO BLOQUEIO DOS RECEPTORES D_1 CENTRAIS SOBRE A T_{INTERNA} , A T_{CAUDA} E O ÍNDICE TÉRMICO DE ANIMAIS DURANTE O EXERCÍCIO SUBMÁXIMO ATÉ A FADIGA.

Nos 10 primeiros minutos do exercício submáximo, correspondente à fase dinâmica do balanço térmico, foi observado aumento rápido e progressivo da T_{interna} de $\sim 1,0$ °C, tanto nas situações SAL e SCH quanto na situação SAL_{tsch} ($p < 0,05$). Após este período, já na fase estável do balanço térmico, a T_{interna} dos animais SAL permaneceu estável até o final do experimento em um novo patamar, $1,2$ °C maior que a T_{interna} basal ($p < 0,05$). Entretanto, nas situações SCH e, conseqüentemente na situação SAL_{tsch} , nas quais o exercício teve menor duração (13 minutos), os animais não chegaram a atingir a fase estável do balanço térmico do exercício (Figura 13A).

A T_{interna} dos animais nas situações SAL e SAL_{tsch} aumentou a partir do quarto minuto (0 min.: $37,13 \pm 0,09$ °C, SAL; $36,94 \pm 0,15$ °C, SAL_{tsch} , vs 4 min.: $37,58 \pm 0,08$ °C, SAL; $37,38 \pm 0,17$ °C, SAL_{tsch} , $p < 0,05$). Na situação SCH houve aumento da T_{interna} a partir do terceiro minuto (0 min.: $37,07 \pm 0,10$ °C vs 3 min.: $37,54 \pm 0,07$ °C, $p < 0,05$). A T_{interna} não foi diferente entre tais situações experimentais, inclusive no ponto de fadiga (Fadiga: $38,30 \pm 0,19$ °C, SAL, vs $38,26 \pm 0,09$ °C, SCH, $p > 0,05$; Figura 13A). O índice térmico calculado para a fase dinâmica ($\text{TE}=10\text{min}$), momento em que os animais se mantiveram em exercício, não apresentou diferença entre as situações (Índice térmico relativo à T_{interna} : $5,70 \pm 0,66$ °C.min, SAL, vs $4,47 \pm 1,03$ °C.min, SAL_{tsch} , vs $5,99 \pm 0,70$ °C.min, SCH, $p > 0,05$; Figura 13B).

Em relação à T_{cauda} , o exercício promoveu inicialmente vasoconstrição, visualizada pela redução da T_{cauda} em todas as situações experimentais. O nadir foi alcançado no terceiro e quarto minuto de exercício nos tratamentos com o bloqueador de dopamina e salina, respectivamente (SCH: $-1,21 \pm 0,32$ °C; SAL: $-2,27 \pm 0,48$ °C; SAL_{tsch} : $-1,44 \pm 0,61$ °C; Figura 13C). Após o ponto máximo de vasoconstrição do leito cutâneo da cauda, a T_{cauda} começou a se elevar gradativamente. Mediante a resposta de vasodilatação, na situação SAL, a T_{cauda} continuou a aumentar até atingir um platô que foi sustentado até a fadiga. Todavia, nas situações SAL_{tsch} e SCH essa temperatura ao final do exercício foi

aproximadamente 1,4 °C menor do que aquela registrada em SAL (Fadiga: $30,89 \pm 0,29$ °C, SAL, vs $29,39 \pm 0,42$ °C, SAL_{tsch}, vs $29,47 \pm 0,48$ °C, SCH, $p < 0,05$). A análise do índice térmico para a fase dinâmica, de maneira semelhante para a T_{interna}, não mostrou diferença entre as situações experimentais (Índice térmico relativo à T_{cauda}: $-12,37 \pm 4,99$ °C.min, SAL, vs $-8,00 \pm 4,70$ °C.min, SAL_{tsch}, vs $-1,63 \pm 4,59$ °C.min, SCH, $p > 0,05$; Figura 13D).

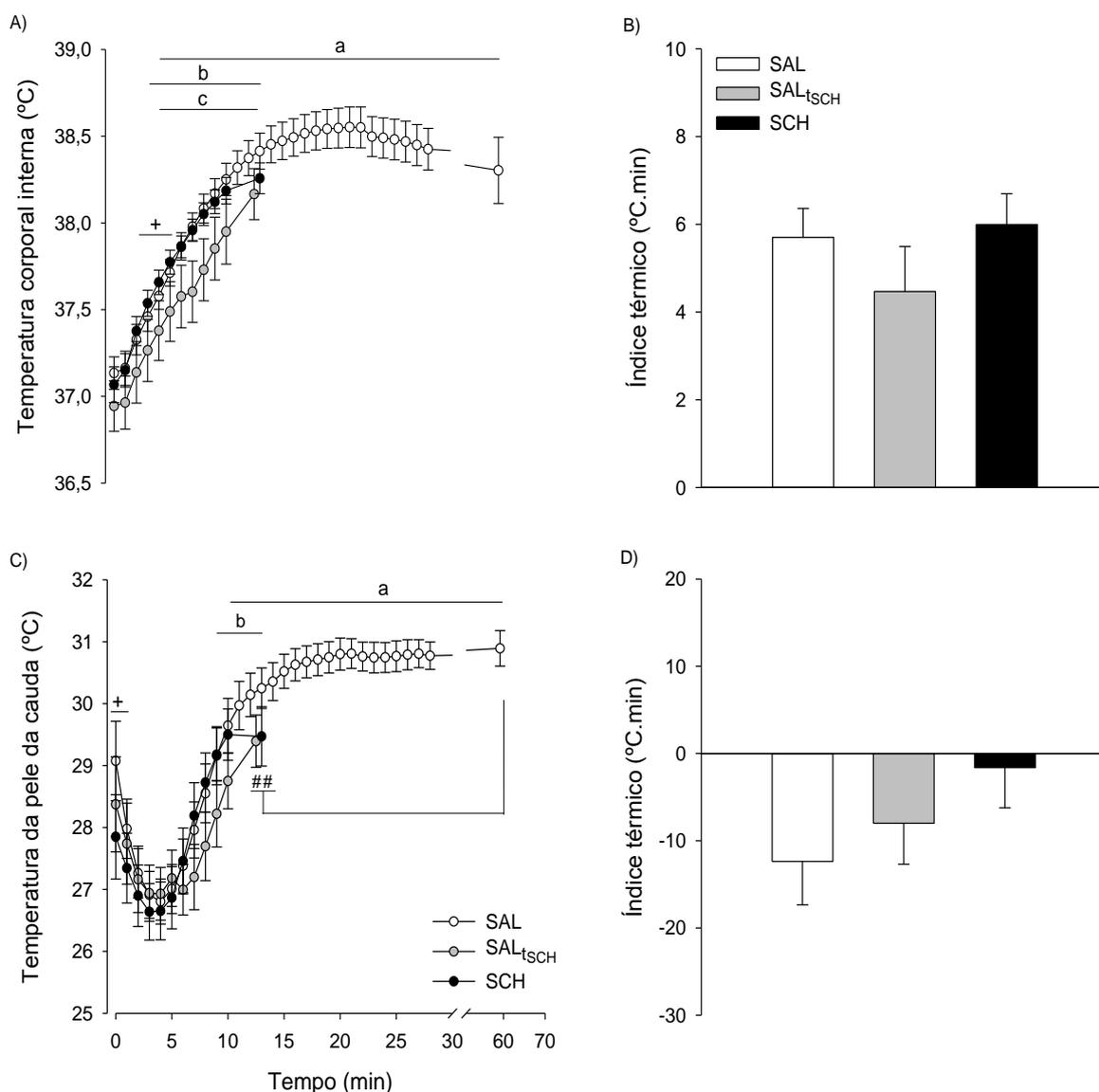


Figura 13. Efeito da injeção i.c.v. de SCH-23390 (10 nmol, 2 μ L, SCH) ou de NaCl 0,15 M (2 μ L, SAL e SAL_{tSCH}) sobre a temperatura corporal interna ($T_{interna}$, A), a temperatura da pele da cauda (T_{cauda} , C) durante o exercício submáximo até a fadiga (SAL e SCH) ou até a interrupção do exercício (SAL_{tSCH}) e o índice térmico referente à área sob a curva da $T_{interna}$ (B) e da T_{cauda} (D) durante a fase dinâmica do exercício submáximo. a, $p < 0,05$ vs SAL no minuto 0. b, $p < 0,05$ vs SCH no minuto 0. c, $p < 0,05$ SAL_{tSCH} vs no minuto 0. ##, $p < 0,05$ SAL vs SAL_{tSCH} e SCH. +, $p < 0,05$ SAL_{tSCH} vs SCH. SAL, $n=15$; SAL_{tSCH}, $n=8$; SCH, $n=15$. Dados expressos como média \pm EPM.

4.4. EFEITO DO BLOQUEIO DOS RECEPTORES D_1 CENTRAIS SOBRE O ÍNDICE DE DISSIPÇÃO DE CALOR, LIMIAR E SENSIBILIDADE DA DISSIPÇÃO CUTÂNEA DE CALOR DE ANIMAIS DURANTE O EXERCÍCIO SUBMÁXIMO ATÉ A FADIGA.

A análise do índice de dissipação de calor mostrou que não houve diferença entre as três situações experimentais ($p > 0,05$). A resposta encontrada apresentou comportamento semelhante àquele registrado na T_{cauda} (Figura 14A).

Os mecanismos centrais e periféricos de dissipação cutânea de calor também não foram afetados pelo tratamento com SCH-23390. O limiar térmico para dissipação cutânea de calor foi alcançado no oitavo minuto do exercício físico e não foi diferente entre as situações experimentais ($38,08 \pm 0,08$ °C, SAL, vs $38,17 \pm 0,15$ °C, SAL_{tSCH}, vs $38,05 \pm 0,06$ °C, SCH, $p > 0,05$; Figura 14C). De modo semelhante, a sensibilidade da dissipação cutânea de calor não foi diferente entre as situações experimentais ($6,49 \pm 0,73$, SAL, vs $5,13 \pm 0,53$, SAL_{tSCH}, vs $7,76 \pm 1,26$, SCH, $p > 0,05$; Figura 14D). Estes resultados são confirmados na relação entre T_{cauda} e T_{interna} (Figura 14B), que não apresentou deslocamento das curvas de temperatura para as situações experimentais.

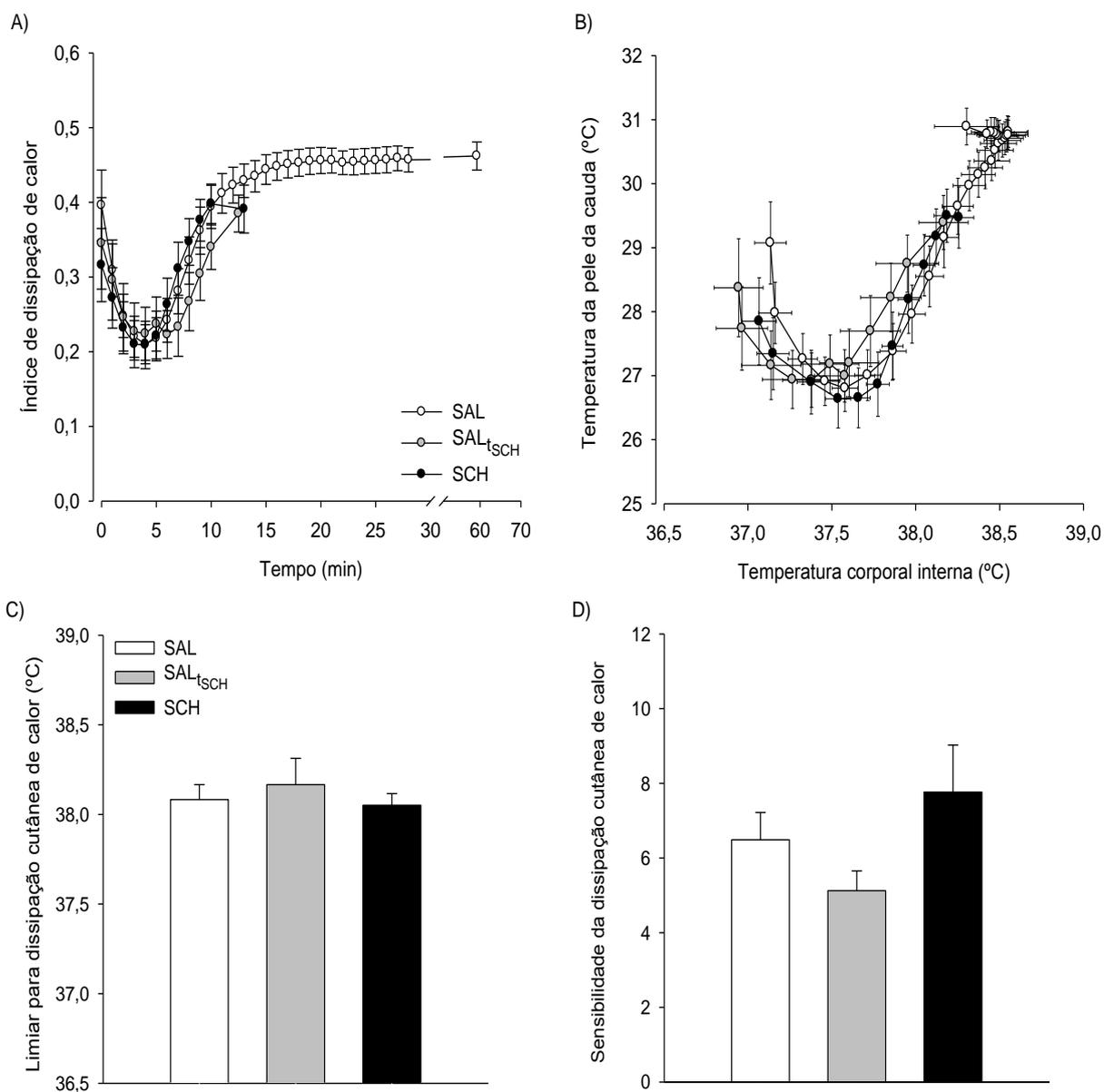


Figura 14. Índice de dissipação de calor e atividade termofetora durante o exercício submáximo após a injeção i.c.v. de SCH-23390 (10 nmol, 2 μ L, SCH) ou de NaCl 0,15 M (2 μ L, SAL e SAL_{tSCH}) até a fadiga (SAL e SCH) ou até a interrupção do exercício (SAL_{tSCH}). $p > 0,05$. SAL, $n=15$, SAL_{tSCH}, $n=8$; SCH, $n=15$. Dados expressos como média \pm EPM.

4.5. EFEITO DO BLOQUEIO DOS RECEPTORES D_1 CENTRAIS SOBRE A TAXA DE AQUECIMENTO CORPORAL, O ACÚMULO DE CALOR E A RAZÃO ENTRE O ACÚMULO DE CALOR E TRABALHO DE ANIMAIS DURANTE O EXERCÍCIO SUBMÁXIMO.

A análise realizada para os 10 minutos iniciais da corrida, nos quais todos os animais se mantiveram em exercício, mostrou semelhança na taxa de aquecimento corporal ($0,11 \pm 0,01$ °C.min⁻¹, SAL, vs $0,11 \pm 0,02$ °C.min⁻¹, SAL_{tSCH}, vs $0,12 \pm 0,01$ °C.min⁻¹, SCH, $p > 0,05$; Figura 15B) e no acúmulo de calor ($294,28 \pm 31,20$ cal, SAL, vs $302,53 \pm 52,52$ cal, SAL_{tSCH}, vs $299,37 \pm 32,70$ cal, SCH, $p > 0,05$; Figura 15D) entre as situações experimentais. De igual modo, a razão entre o acúmulo de calor e o trabalho durante a fase dinâmica não foi diferente entre as situações do exercício ($7,28 \pm 0,78$ cal/J, SAL, vs $7,23 \pm 1,30$ cal/J, SAL_{tSCH}, vs $7,76 \pm 0,84$ cal/J, SCH, $p > 0,05$; Figura 15E).

Conforme esperado, o bloqueio dos receptores dopaminérgicos D_1 durante o repouso não alterou a taxa de aquecimento corporal ($0,01 \pm 0,01$ °C.min⁻¹, SAL_{tSCH}, vs $0,01 \pm 0,01$ °C.min⁻¹, SCH, $p > 0,05$; Figura 15A) assim como o acúmulo de calor ($41,31 \pm 30,46$ °C.min⁻¹, SAL_{tSCH}, vs $47,61 \pm 24,74$ °C.min⁻¹, SCH, $p > 0,05$; Figura 15C).

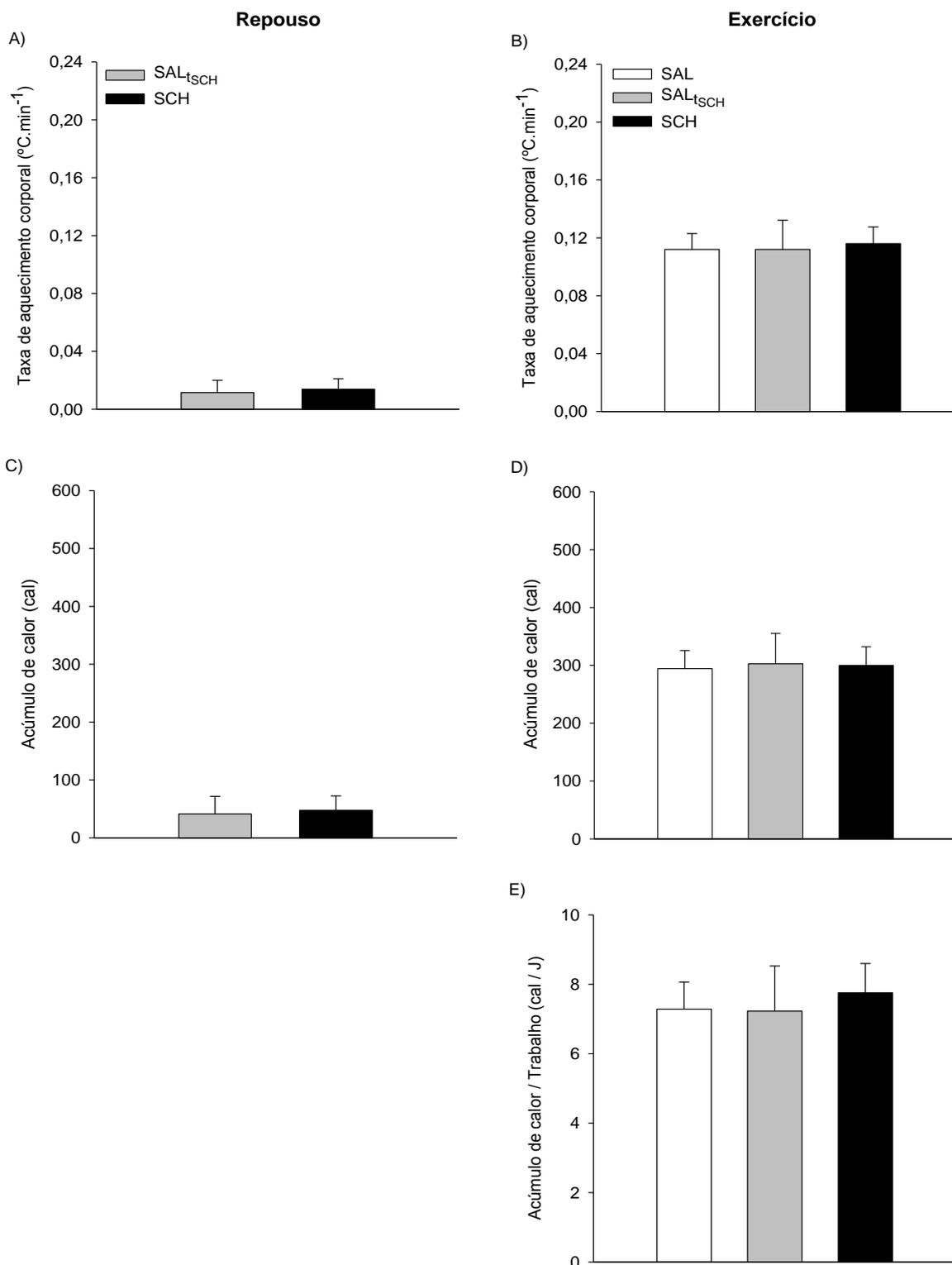


Figura 15. Efeito da injeção i.c.v. de SCH-23390 (10 nmol, 2 μ L, SCH) ou de NaCl 0,15 M (2 μ L, SAL e SAL_{tSCH}) sobre a taxa de aquecimento corporal (TAC), o acúmulo de calor (AC) durante o repouso (TR=13min; A e C, respectivamente) e na fase dinâmica do exercício submáximo (TE=10min, B e D, respectivamente), e a razão entre o AC e o trabalho (E) durante a fase dinâmica. $p > 0,05$. Repouso: SAL_{tSCH}, n=10; SCH, n=10. Exercício: SAL, n=15; SAL_{tSCH}, n=8; SCH, n=15. Dados expressos como média \pm EPM.

4.6. EFEITO DO BLOQUEIO DOS RECEPTORES D_1 CENTRAIS SOBRE A T_{INTERNA} EM RELAÇÃO AO PERCENTUAL DO TRABALHO MÁXIMO.

Realizou-se a análise da T_{interna} em relação ao percentual do trabalho máximo realizado até a fadiga entre SAL e SCH (% W Máximo; Figura 16). No tratamento com SCH-23390 a T_{interna} foi 0,66 °C menor comparada a situação SAL a partir de 10% do W Máximo ($37,85 \pm 0,11$ °C, SAL, vs $37,19 \pm 0,09$ °C, SCH, $p < 0,05$). A diferença entre tais tratamentos se manteve até 60% do W Máximo, momento no qual a T_{interna} foi 0,33 °C menor em SCH ($38,35 \pm 0,13$, SAL, vs $38,02 \pm 0,05$, SCH, $p < 0,05$).

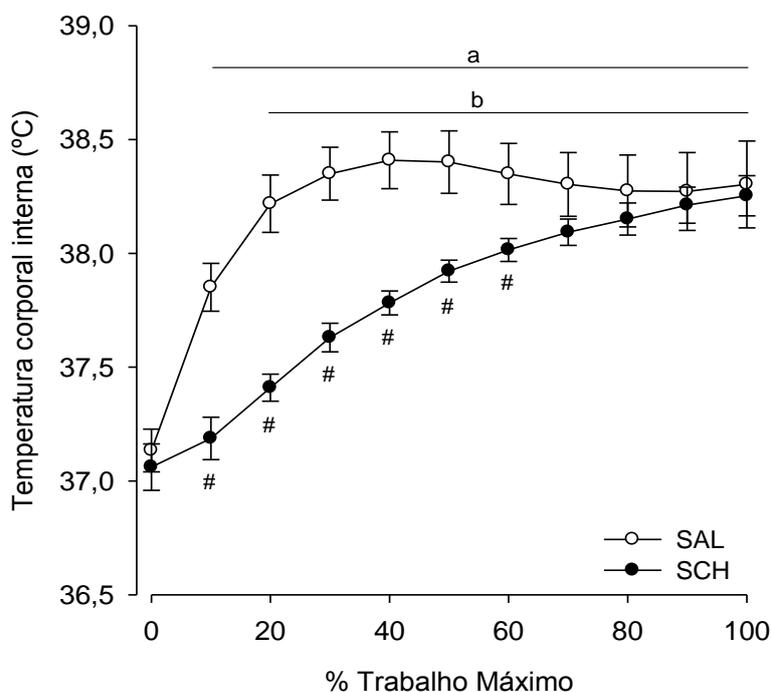


Figura 16. Efeito da injeção i.c.v. de SCH-23390 (10 nmol, 2 μ L, SCH) ou de NaCl 0,15 M (2 μ L, SAL) sobre a temperatura corporal interna (T_{interna}) em relação ao percentual do trabalho máximo realizado até a fadiga (% W Máximo). a, $p < 0,05$ vs SAL no 0% W Máximo. b, $p < 0,05$ vs SCH no 0% W Máximo. #, $p < 0,05$ SAL vs SCH. SAL, $n=15$; SCH, $n=15$. Dados expressos como média \pm EPM.

4.7. EFEITO DO BLOQUEIO DOS RECEPTORES D_1 CENTRAIS SOBRE A RECUPERAÇÃO PÓS-EXERCÍCIO.

Durante o período de recuperação pós-exercício, a T_{interna} dos animais permaneceu acima dos valores registrados no início do exercício para todas as situações (0min. Exercício: $37,13 \pm 0,09$ °C, SAL; $36,94 \pm 0,15$ °C, SAL_{tsch}; $37,07 \pm 0,10$ °C, SCH, vs 30min. Recuperação: $37,70 \pm 0,24$ °C, SAL; $37,70 \pm 0,13$ °C, SAL_{tsch}; $37,89 \pm 0,15$ °C, SCH, $p < 0,05$). A T_{interna} dos animais nas situações SAL e SAL_{tsch} começou a reduzir em relação aos valores encontrados no momento da fadiga a partir do 25º minuto após a interrupção do exercício (Fadiga: $38,30 \pm 0,19$ °C, SAL; $38,17 \pm 0,15$ °C, SAL_{tsch}, vs 25min. Recuperação: $37,76 \pm 0,23$ °C, SAL; $37,68 \pm 0,12$ °C, SAL_{tsch}, $p < 0,05$) enquanto que em SCH a redução somente foi observada a partir de 30 minutos após a fadiga (Fadiga: $38,26 \pm 0,09$ °C, SCH, vs 30min. Recuperação: $37,89 \pm 0,15$ °C, SCH, $p < 0,05$) (Figura 17A).

No momento da fadiga, o valor da T_{cauda} foi menor nas situações SAL_{tsch} ($29,39 \pm 0,42$ °C, SAL_{tsch}, $p < 0,05$) e SCH ($29,47 \pm 0,48$ °C, SCH, $p < 0,05$) em relação à SAL ($30,89 \pm 0,29$ °C, SAL). Embora na situação SCH a T_{cauda} tenha sido menor do que em SAL, em ambas as situações a T_{cauda} retornou aos valores do início do exercício a partir de 15 minutos após a fadiga (0min. Exercício: $29,07 \pm 0,64$ °C, SAL; $27,85 \pm 0,68$ °C, SCH, vs 15min. Recuperação: $29,17 \pm 0,41$ °C, SAL; $28,54 \pm 0,47$ °C, SCH, $p > 0,05$). Na situação SAL_{tsch} os valores de T_{cauda} ao final do exercício e durante a recuperação não foram diferentes do valor registrado no início do exercício (0min. Exercício: $28,37 \pm 0,77$ °C, vs Fadiga: $29,39 \pm 0,42$ °C, vs 30min. Recuperação: $27,83 \pm 0,75$ °C, SAL_{tsch}, $p > 0,05$; Figura 17B).

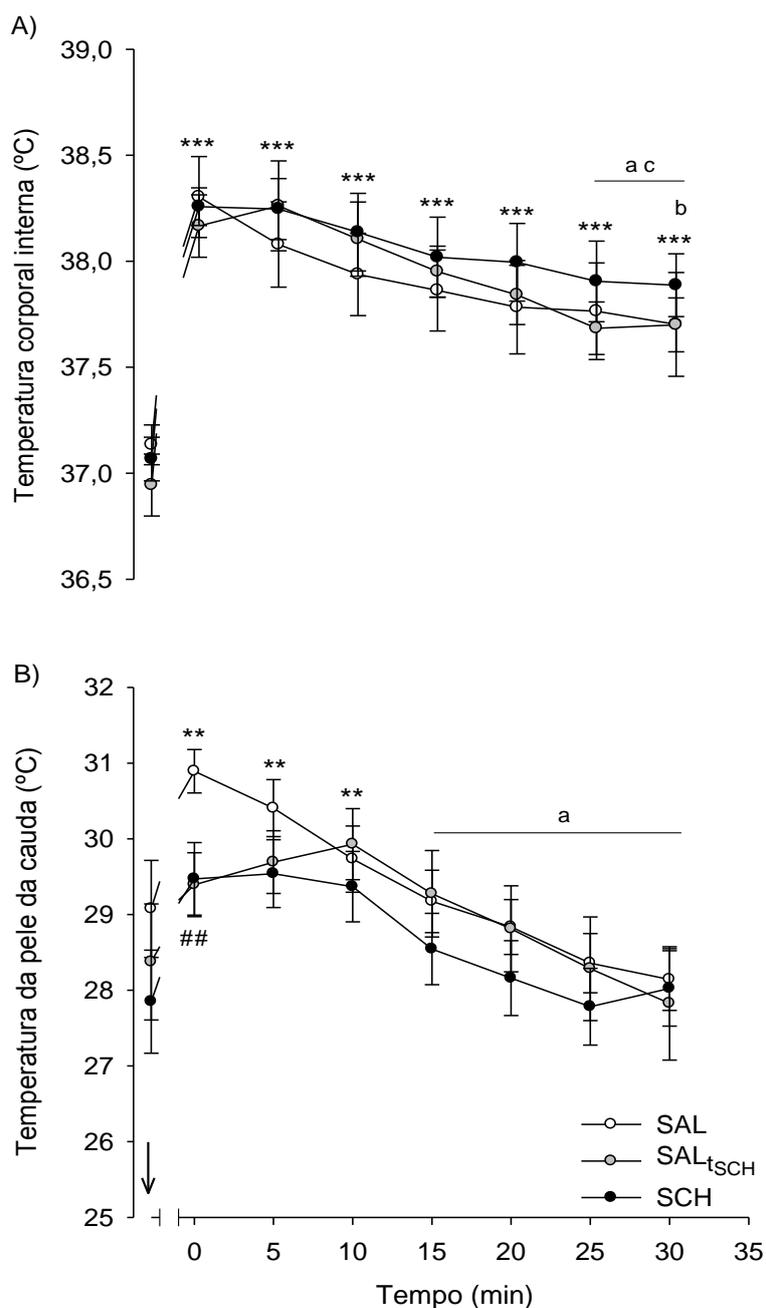


Figura 17. Efeito da injeção i.c.v. de SCH-23390 (10 nmol, 2 μ L, SCH) ou de NaCl 0,15 M (2 μ L, SAL e SALT_{SCH}) sobre a temperatura corporal interna (T_{interna} , A) e a temperatura da pele da cauda (T_{cauda} , B) durante o período de recuperação pós-exercício. A seta corresponde ao início do exercício e o minuto 0 à fadiga (SAL e SCH) ou à interrupção do exercício (SALT_{SCH}). a, $p < 0,05$ vs SAL no minuto 0 pós-exercício. b, $p < 0,05$ vs SCH no minuto 0 pós-exercício. c, $p < 0,05$ SALT_{SCH} vs no minuto 0 pós-exercício. ***, $p < 0,05$ T_{interna} diferente do minuto inicial do exercício para todas as situações. **, $p < 0,05$ T_{cauda} diferente do minuto inicial do exercício para SAL e SCH. ##, $p < 0,05$ SAL vs SALT_{SCH} e SCH no minuto 0. SAL, $n=15$; SALT_{SCH}, $n=8$; SCH, $n=15$. Dados expressos como média \pm EPM.

4.8.EFEITO DO EXERCÍCIO SUBMÁXIMO ATÉ A FADIGA SOBRE A ATIVAÇÃO NEURONAL DE NÚCLEOS HIPOTALÂMICOS.

O exercício submáximo realizado a 70% da capacidade máxima de corrida até a fadiga induziu ativação de neurônios nos núcleos hipotalâmicos estudados, como visualizado pelo número de células imunomarcadas por c-Fos (c-Fos-ir) no MnPO ($22,60 \pm 1,03$ neurônios c-Fos-ir/secção, Repouso, vs $55,25 \pm 12,33$ neurônios c-Fos-ir/secção, Exercício, $p < 0,05$; Figura 18), no MPO ($16,80 \pm 2,85$ neurônios c-Fos-ir/secção Repouso, vs $34,00 \pm 4,78$ neurônios c-Fos-ir/secção, Exercício, $p < 0,05$; Figura 19), no PVN ($49,50 \pm 6,51$ neurônios c-Fos-ir/secção, Repouso, vs $327,75 \pm 95,50$ neurônios c-Fos-ir/secção, Exercício, $p < 0,05$; Figura 20) e no SON ($168,60 \pm 29,69$ neurônios c-Fos-ir/secção, Repouso, vs $390,00 \pm 61,93$ neurônios c-Fos-ir/secção, Exercício, $p < 0,05$; Figura 21) quando comparado à situação de repouso na esteira. A ativação neuronal induzida pelo exercício físico foi mais expressiva no PVN (562%, $p < 0,05$) em relação aos demais núcleos.

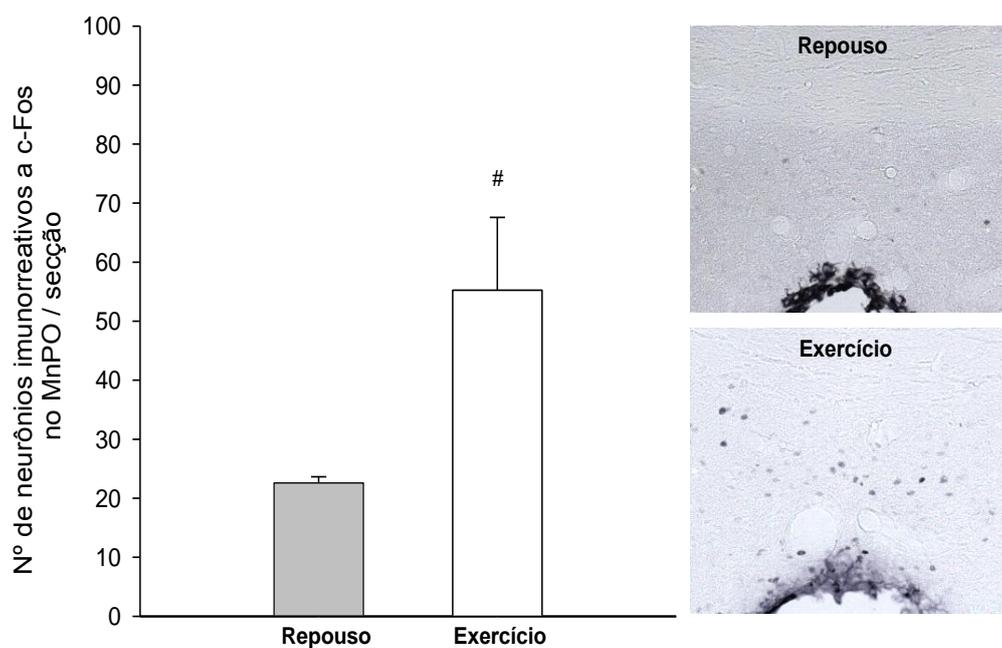
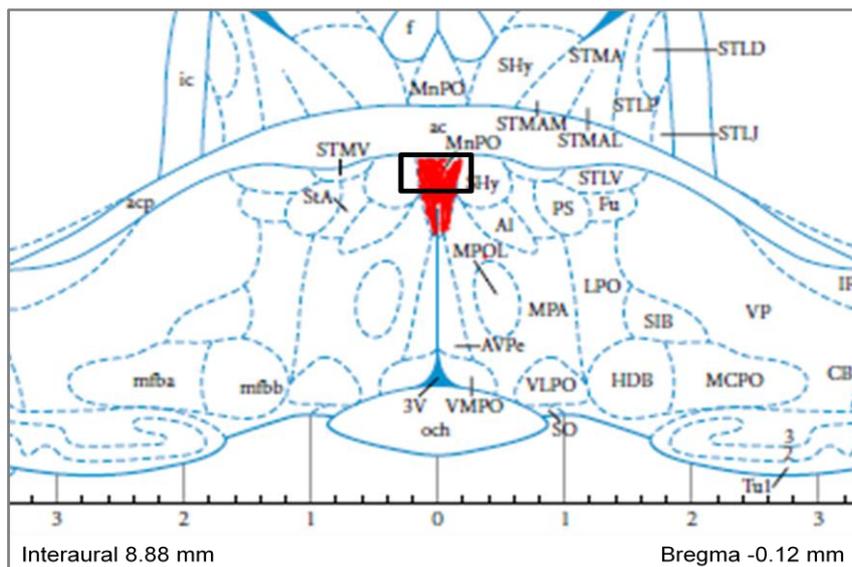


Figura 18. No painel superior, desenho esquemático segundo Atlas Paxinos e Watson do núcleo pré-óptico mediano (MnPO). No painel inferior, número de células imunomarcadas por c-Fos no MnPO durante o repouso na esteira e o exercício submáximo até a fadiga. #, $p < 0,05$ SAL_{tSCH} repouso vs SAL exercício. Fotomicrografias representativas mostram a imunorreatividade a c-Fos no repouso e no exercício no MnPO. Aumento de 20X. A proteína Fos detectada por imunohistoquímica nas secções coronais é evidenciado como núcleos pretos. Repouso, n=5; Exercício, n=5. Dados expressos como média \pm EPM.

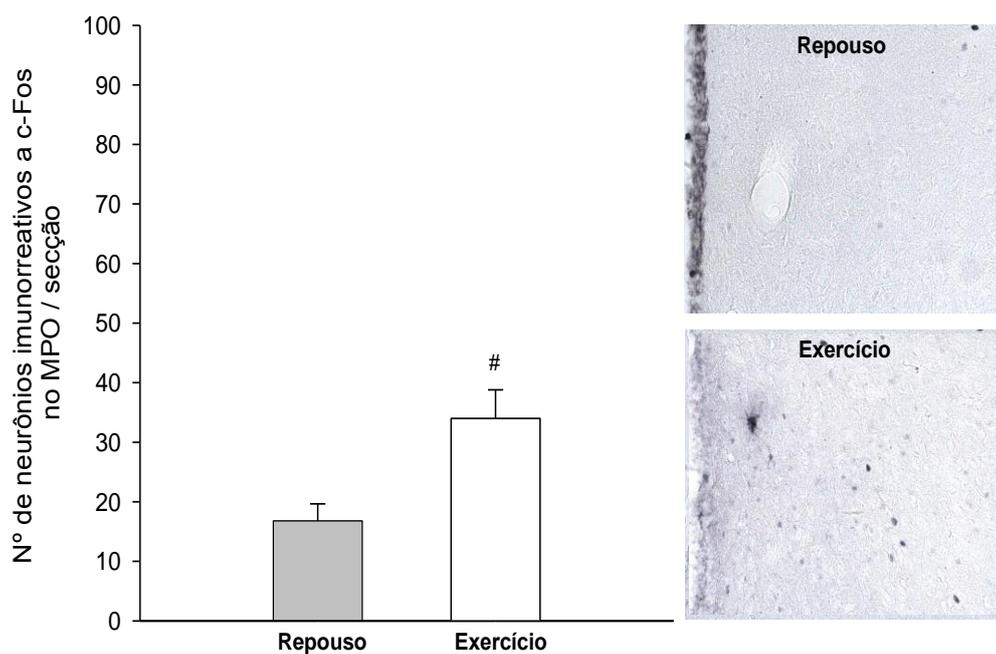
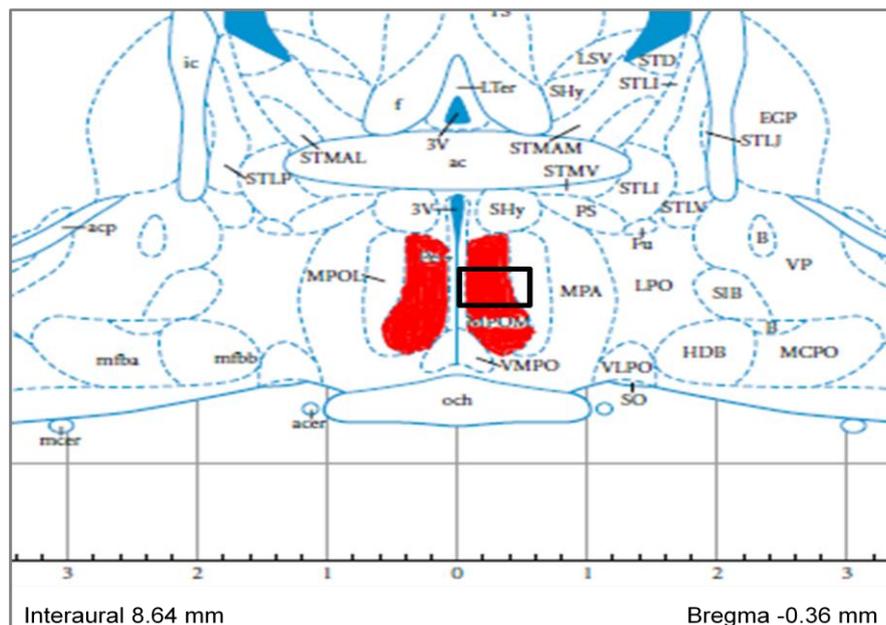


Figura 19. No painel superior, desenho esquemático segundo Atlas Paxinos e Watson do núcleo pré-óptico medial (MPO). No painel inferior, número de células imunomarcadas por c-Fos no MPO durante o repouso na esteira e o exercício submáximo até a fadiga. #, $p < 0,05$ SAL_{SCH} repouso vs SAL exercício. Fotomicrografias representativas mostram a imunorreatividade a c-Fos no repouso e no exercício no MPO. Aumento de 20X. A proteína Fos detectada por imunohistoquímica nas secções coronais é evidenciado como núcleos pretos. Repouso, n=5; Exercício, n=5. Dados expressos como média \pm EPM.

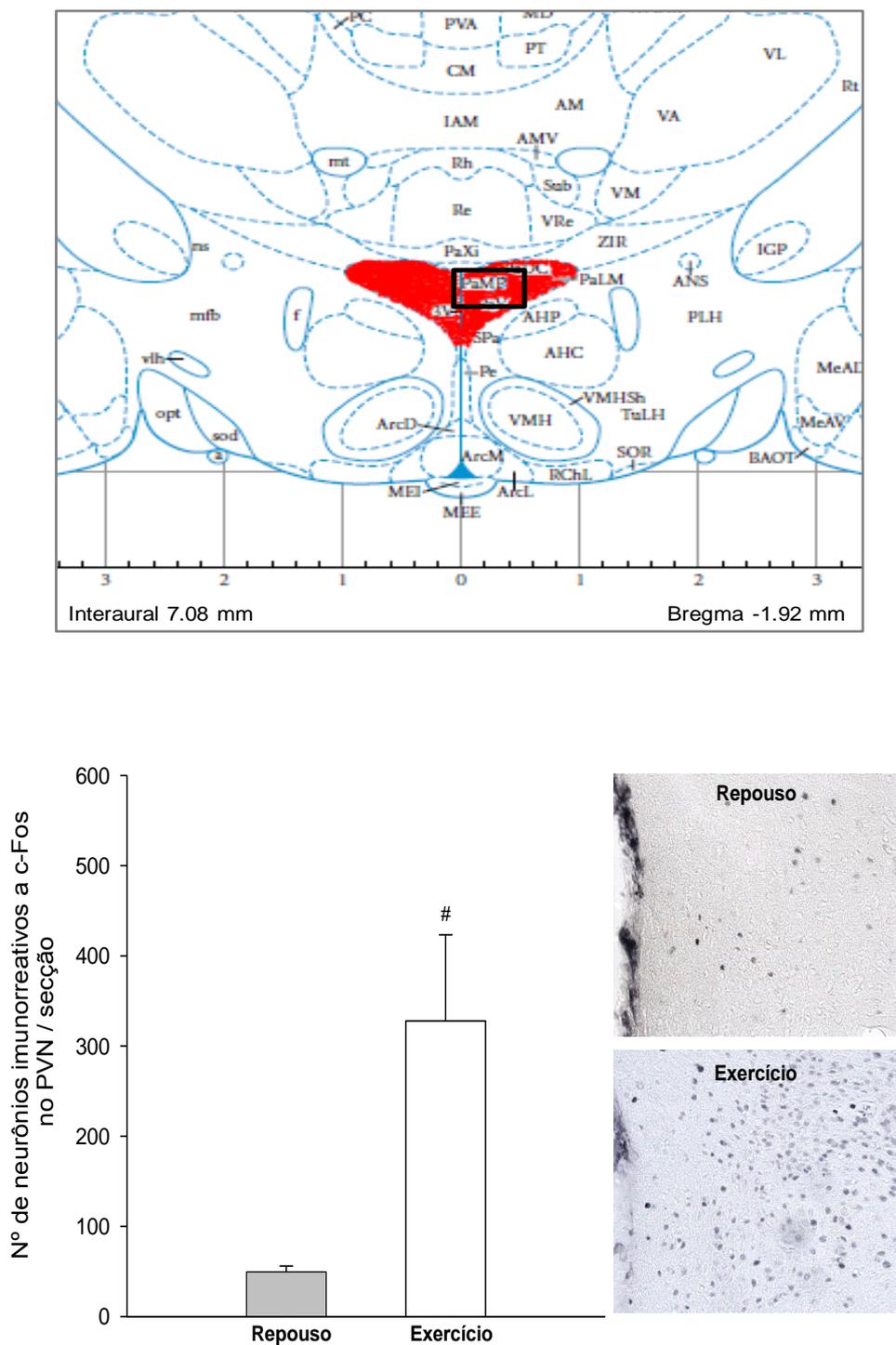


Figura 20. No painel superior, desenho esquemático segundo Atlas Paxinos e Watson do núcleo paraventricular do hipotálamo (PVN). No painel inferior, número de células imunomarcadas por c-Fos no PVN durante o repouso na esteira e o exercício submáximo até a fadiga. #, $p < 0,05$ SAL_{tSCH} repouso vs SAL exercício. Fotomicrografias representativas mostram a imunorreatividade a c-Fos no repouso e no exercício no PVN. Aumento de 20X. A proteína detectada por imunohistoquímica nas secções coronais é evidenciado como núcleos pretos. Repouso, $n=5$; Exercício, $n=5$. Dados expressos como média \pm EPM.

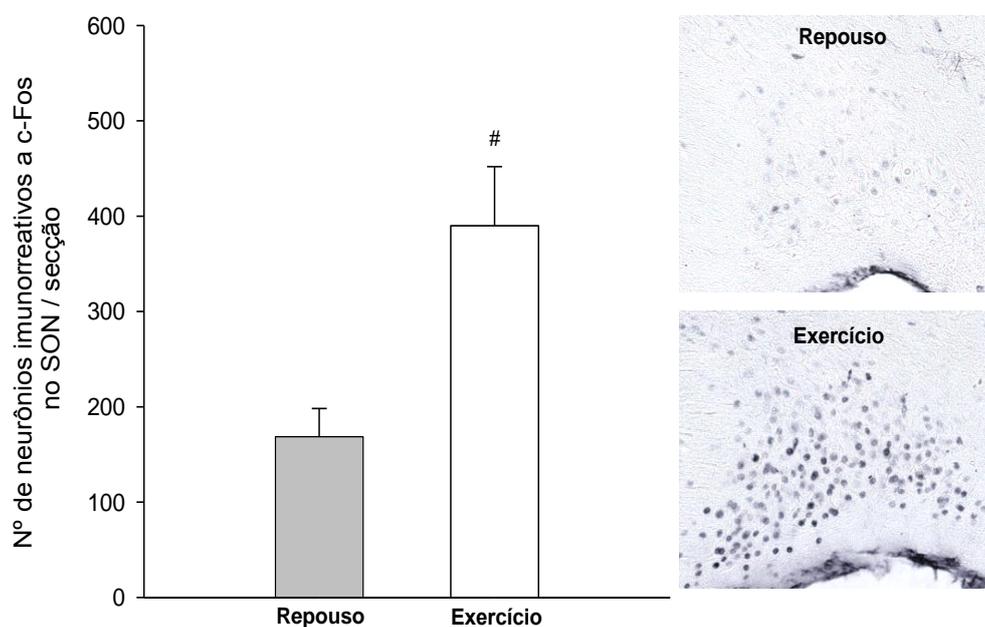
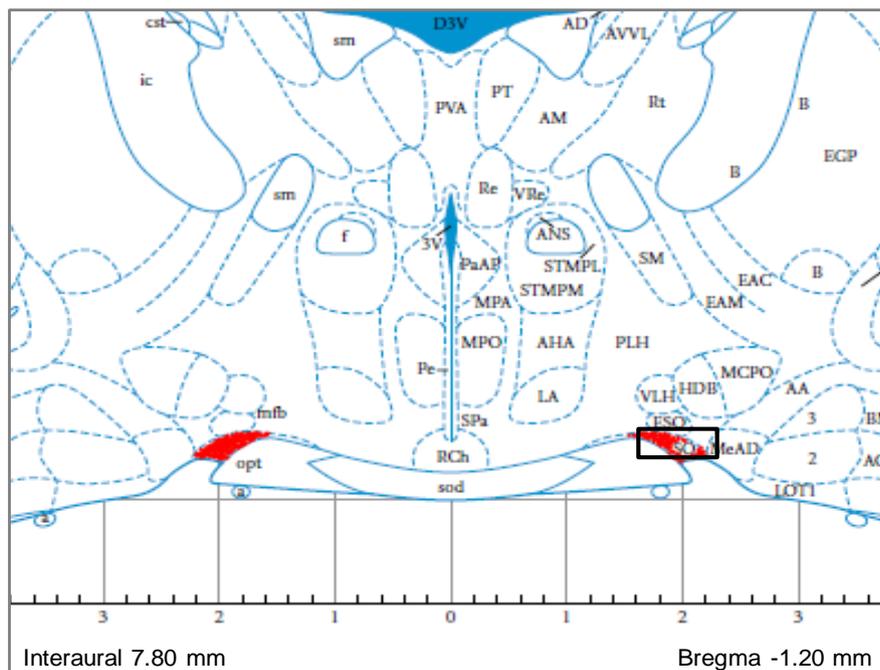


Figura 21. No painel superior, desenho esquemático segundo Atlas Paxinos e Watson do núcleo supra-óptico (SON). No painel inferior, número de células imunomarcadas por c-Fos no SON durante o repouso na esteira e o exercício submáximo até a fadiga. #, $p < 0,05$ SAL_{SCH} repouso vs SAL exercício. Fotomicrografias representativas mostram a imunorreatividade a c-Fos no repouso e no exercício no SON. Aumento de 20X. A proteína detectada por imunohistoquímica nas secções coronais é evidenciado como núcleos pretos. Repouso, $n=5$; Exercício, $n=5$. Dados expressos como média \pm EPM.

4.9. EFEITO DA INJEÇÃO I.C.V. DE SCH-23390 (10 NMOL) OU SALINA (0,15 M NA_{CL}) SOBRE A ATIVAÇÃO NEURONAL DE NÚCLEOS HIPOTALÂMICOS.

Durante o repouso na esteira, a microinjeção de SCH-23390 reduziu a ativação neuronal no SON em comparação à situação veículo ($168,60 \pm 29,69$ neurônios c-Fos-ir/secção, SAL_{tsch} repouso, vs $67,80 \pm 19,80$ neurônios c-Fos-ir/secção, SCH repouso, $p < 0,05$; Figura 22D). Entretanto, não houve diferença na ativação neuronal do MPO, do MnPO e do PVN ($p > 0,05$) entre SAL_{tsch} e SCH durante o repouso na esteira.

O tratamento com o antagonista dos receptores dopaminérgicos D₁ durante o exercício submáximo proporcionou aumento na ativação neuronal no MnPO ($31,40 \pm 7,70$ neurônios c-Fos-ir/secção, SAL_{tsch} exercício, vs $57,00 \pm 11,21$ neurônios c-Fos-ir/secção, SCH exercício, $p < 0,05$; Figura 22B), no PVN ($91,40 \pm 22,30$ neurônios c-Fos-ir/secção, SAL_{tsch} exercício, vs $197,60 \pm 47,55$ neurônios c-Fos-ir/secção, SCH exercício, $p < 0,05$; Figura 22C) e no SON ($157,00 \pm 29,89$ neurônios c-Fos-ir/secção, SAL_{tsch} exercício, vs $263,80 \pm 47,94$ neurônios c-Fos-ir/secção, SCH exercício, $p < 0,05$; Figura 22D) quando comparado com a situação SAL_{tsch}. Todavia, o bloqueio de D₁ durante o exercício não modificou a ativação do MPO ($22,80 \pm 3,88$ neurônios c-Fos-ir/secção, SAL_{tsch} exercício, vs $27,75 \pm 5,85$ neurônios c-Fos-ir/secção, SCH exercício, $p > 0,05$; Figura 22A).

Na situação do bloqueio de D₁, o exercício físico aumentou a ativação neuronal do MnPO em relação ao mesmo tratamento durante o repouso ($19,00 \pm 1,92$ neurônios c-Fos-ir/secção, SCH repouso, vs $57,00 \pm 11,21$ neurônios c-Fos-ir/secção, SCH exercício, $p < 0,05$; Figura 22B), assim como do PVN ($41,00 \pm 4,77$ neurônios c-Fos-ir/secção, SCH repouso, vs $197,60 \pm 47,55$ neurônios c-Fos-ir/secção, SCH exercício, $p < 0,05$; Figura 22C) e do SON ($67,80 \pm 19,80$ neurônios c-Fos-ir/secção, SCH repouso, vs $263,80 \pm 47,94$ neurônios c-Fos-ir/secção, SCH exercício, $p < 0,05$; Figura 22D). Não foi verificado aumento no número de células imunorreativas a c-Fos no MPO ao comparar o tratamento durante o repouso em esteira e o exercício submáximo até a fadiga ($18,20 \pm 4,81$ neurônios c-Fos-ir/secção, SCH repouso, vs $27,75 \pm 5,85$ neurônios c-Fos-

ir/secção, SCH exercício, $p > 0,05$; Figura 22A). De maneira semelhante, não foi observado aumento na ativação neuronal entre os protocolos de repouso e de exercício submáximo para a situação SAL_{tSCH} , apesar dos animais terem tido a mesma duração do exercício da situação de bloqueio (MPO: $16,80 \pm 2,85$ neurônios c-Fos-ir/secção; MnPO: $22,60 \pm 1,03$ neurônios c-Fos-ir/secção; PVN: $49,50 \pm 6,51$ neurônios c-Fos-ir/secção; SON: $168,60 \pm 29,69$ neurônios c-Fos-ir/secção, SAL_{tSCH} repouso, $p > 0,05$; Figura 22).

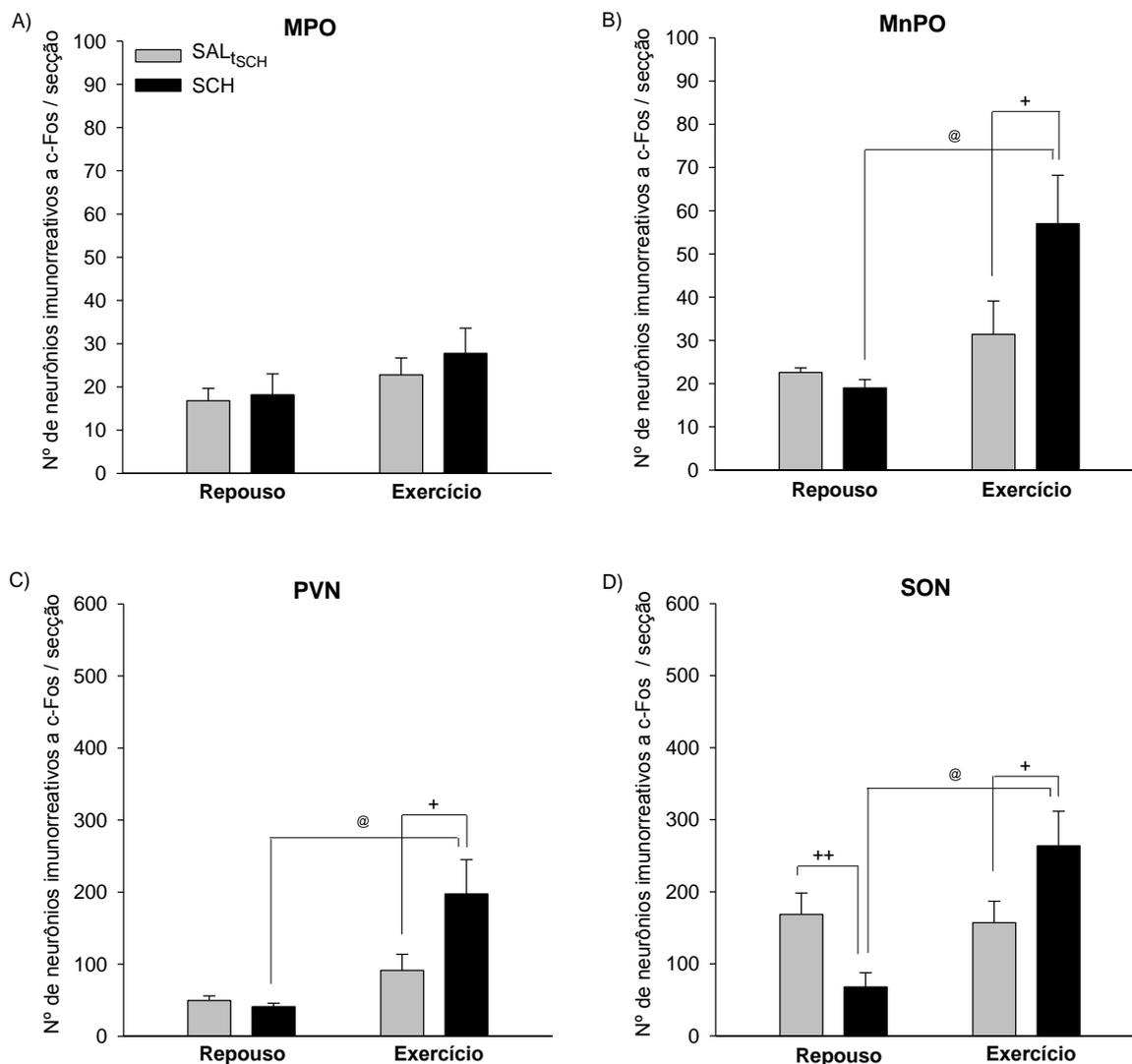


Figura 22. Efeito da injeção i.c.v. de SCH-23390 (10 nmol, 2 μ L, SCH) ou de NaCl 0,15 M (2 μ L, SALT_{SCH}) na expressão de células imunomarcadas por c-Fos nos núcleos pré-óptico medial (MPO, A), pré-óptico mediano (MnPO, B), paraventricular do hipotálamo (PVN, C) e supra-óptico (SON, D) durante o repouso na esteira e o exercício submáximo até a fadiga (SCH) ou até a sua interrupção (SALT_{SCH}). ++, $p < 0,05$ SALT_{SCH} vs SCH no repouso. +, $p < 0,05$ SALT_{SCH} vs SCH no exercício. @, $p < 0,05$ SCH repouso vs SCH exercício. SALT_{SCH}, $n=5$ (repouso / exercício); SCH, $n=5$ (repouso / exercício). Dados expressos como média \pm EPM.

Apesar da duração diferente do exercício em SAL e SCH, a ativação neuronal identificada dos núcleos hipotalâmicos após o exercício submáximo até a fadiga, tanto para a situação veículo quanto para o bloqueio dos receptores D₁, não foi diferente no MPO ($34,00 \pm 4,78$ neurônios c-Fos-ir/secção, SAL exercício, vs $27,75 \pm 5,85$ neurônios c-Fos-ir/secção, SCH exercício, $p > 0,05$; Figura 23A), no MnPO ($55,25 \pm 12,33$ neurônios c-Fos-ir/secção, SAL exercício, vs $57,00 \pm 11,21$ neurônios c-Fos-ir/secção, SCH exercício, $p > 0,05$; Figura 23B), no PVN ($327,75 \pm 95,50$ neurônios c-Fos-ir/secção, SAL exercício, vs $197,60 \pm 47,55$ neurônios c-Fos-ir/secção, SCH exercício, $p > 0,05$; Figura 23C) e no SON ($390,00 \pm 61,93$ neurônios c-Fos-ir/secção, SAL exercício, vs $263,80 \pm 47,94$ neurônios c-Fos-ir/secção, SCH exercício, $p > 0,05$; Figura 23D).

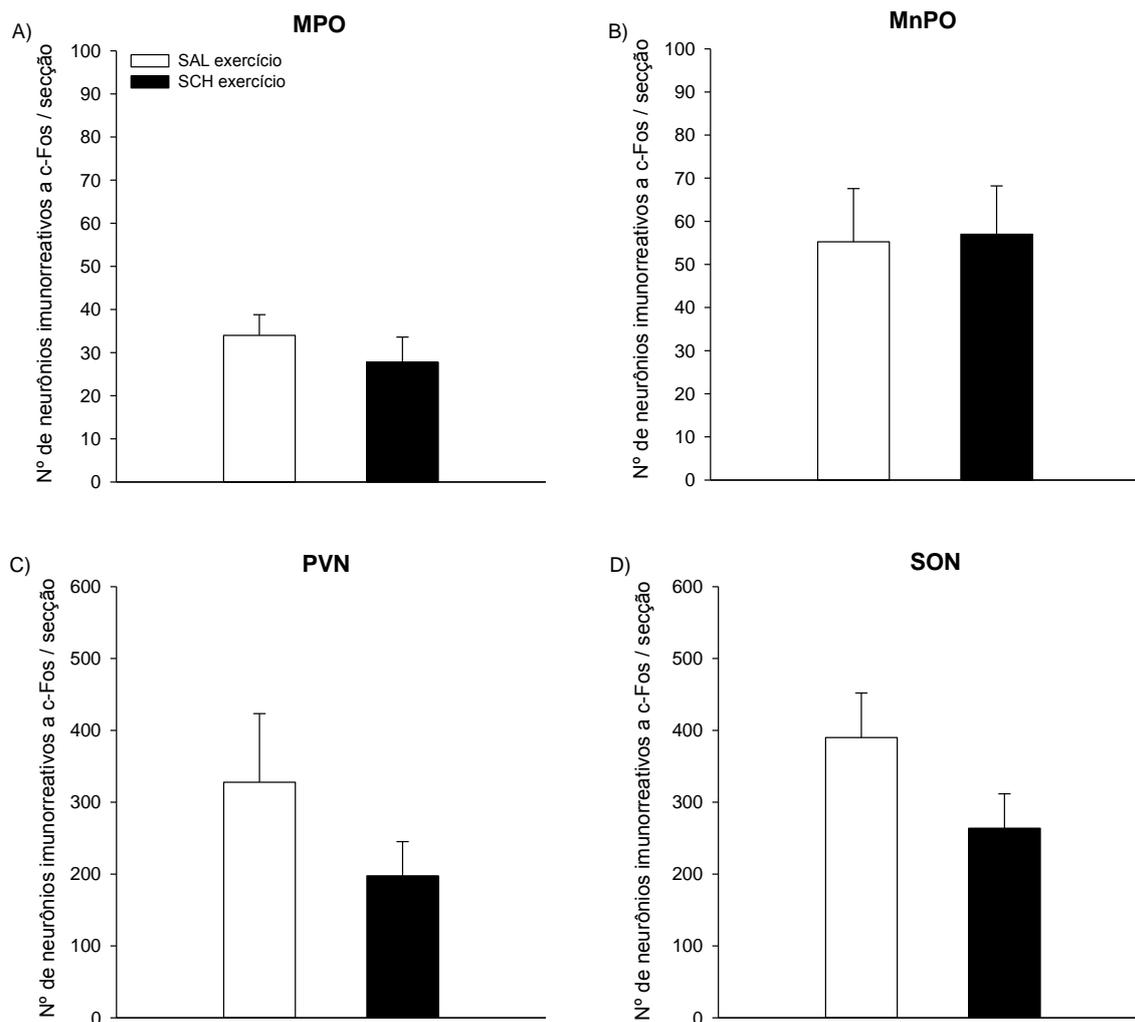


Figura 23. Efeito da fadiga após a i.c.v. de SCH-23390 (10 nmol, 2 μ L, SCH) ou de NaCl 0,15 M (2 μ L, SAL) na expressão de células imunomarcadas por c-Fos nos núcleos pré-óptico medial (MPO, A), pré-óptico mediano (MnPO, B), paraventricular do hipotálamo (PVN, C) e supra-óptico (SON, D) durante o exercício submáximo até a fadiga. $p > 0,05$. SAL, n=5; SCH, n=5. Dados expressos como média \pm EPM.

5. DISCUSSÃO

No presente estudo, a importância da ativação do receptor dopaminérgico D_1 para o desempenho físico durante o exercício submáximo realizado a 70% da capacidade máxima foi apresentada claramente, uma vez que o bloqueio desses receptores reduziu o desempenho físico em 78%. Entretanto a redução do desempenho observado parece não depender do balanço térmico dado que não foi observada diferença nas situações salina e bloqueio do receptor D_1 durante o exercício físico. Essa ideia é apoiada no fato de que a T_{interna} e a T_{cauda} não se alteraram após o bloqueio de D_1 , bem como a análise da taxa de aquecimento corporal, do acúmulo de calor, da razão acúmulo de calor/W e do índice térmico durante a fase dinâmica do exercício físico, período em que todos os animais se mantiveram correndo. Além disso, o índice de dissipação de calor, o limiar e a sensibilidade para dissipação cutânea de calor durante o exercício físico não foram diferentes entre as situações experimentais. Tais achados, portanto, reforçam a ideia de que a redução do desempenho induzida pelo bloqueio dos receptores D_1 não seja dependente do balanço térmico.

Embora o exercício físico tenha aumentado a ativação neuronal nos núcleos MnPO, MPO, PVN e SON, nosso estudo revelou que o PVN parece ter maior sensibilidade ao estímulo de exercício físico dado que a ativação neuronal neste núcleo foi 562% maior em relação ao repouso e, aproximadamente, 400% em relação aos demais núcleos durante o exercício. Os animais na situação do bloqueio dos receptores D_1 apresentaram ativação neuronal mais intensa nos núcleos MnPO, PVN e SON quando comparado aos animais controle que tiveram duração do exercício semelhante aquela realizada na situação do bloqueio. Esta maior ativação registrada na situação SCH sugere ser mais dependente da fadiga do que da quantidade de trabalho realizado, uma vez que a ativação neuronal registrada no animal com o bloqueio de D_1 e que correu até a fadiga foi semelhante ao animal controle que correu até a fadiga e maior do que o animal controle que teve a mesma duração do exercício. Uma vez que o efeito ergolítico não foi relacionado com os ajustes termorregulatórios durante o exercício físico e nem com o trabalho realizado, as vias estimuladas pela ativação dos receptores dopaminérgicos D_1 possivelmente atuariam modificando a percepção de esforço.

Como esperado, os resultados mostram que os animais tratados com SCH-23390 apresentaram redução do desempenho físico em 78%. Esse resultado corrobora os achados de Balthazar e colaboradores (2010) que demonstraram que o bloqueio central dos receptores dopaminérgicos D_1 e D_2 prejudica a capacidade física durante a corrida em esteira. Estudos já mostraram que a atividade dopaminérgica central está envolvida com a melhora da tolerância ao calor e, conseqüentemente, do desempenho físico (WATSON et al., 2005; HASEGAWA et al., 2008), sendo observada maior atividade dopaminérgica no hipotálamo e hipocampo durante o exercício físico (FOLEY; FLESHNER, 2008; HASEGAWA et al., 2008; BALTHAZAR et al., 2009). Esses resultados respaldam o efeito ergogênico da DA ao longo do exercício físico.

Durante os primeiros minutos do exercício submáximo, a T_{interna} aumentou acentuadamente, ao passo que a T_{cauda} reduziu em todas as situações experimentais. Essa redução corresponde a vasoconstrição periférica mediada pela ativação do sistema nervoso simpático (HARTLEY et al., 1972; MCALLISTER; HIRAI; MUSCH, 1995) no começo do exercício físico. O descompasso entre as taxas de produção e de dissipação de calor, característico da fase dinâmica do balanço térmico, permaneceu por aproximadamente 10 minutos. O aumento abrupto da T_{interna} foi amenizado a partir do alcance do limiar térmico para vasodilatação da cauda no oitavo minuto de exercício, para todas as situações experimentais. Destaca-se que a vasodilatação da artéria da cauda é o principal mecanismo de perda de calor em ratos durante o exercício físico (WILSON et al., 1978; SHELLOCK; RUBIN, 1984). Nos animais da situação SAL, tanto a T_{cauda} quanto a T_{interna} permaneceram em valores acima daqueles iniciais e estabilizaram em um patamar elevado, correspondente a fase estável do balanço térmico. Entretanto, na situação SCH esse platô não foi observado dado que os animais fadigaram no início da fase estável.

A análise do balanço térmico durante a fase dinâmica do exercício mostrou que não houve diferença entre as situações experimentais. Isto é, apesar do bloqueio do receptor D_1 ter reduzido o desempenho físico em 78%, a taxa de aquecimento corporal, o acúmulo de calor e a razão acúmulo de calor/W durante a fase dinâmica não se alteraram. O efeito ergolítico do bloqueio central do

receptor D_1 , portanto, parece não estar relacionado com a resposta térmica durante o exercício submáximo em esteira. Balthazar e colaboradores (2010), em estudo com animais submetidos ao bloqueio central de receptores dopaminérgicos D_1 e D_2 durante o exercício progressivo até a fadiga, verificaram que tal bloqueio reduz o tempo de exercício e eleva a T_{interna} e a taxa de aquecimento corporal, além de desencadear hipertermia persistente no período pós-exercício. Tal fato indicaria maior intolerância ao aquecimento corporal durante o exercício físico nos animais com o bloqueio central dos receptores dopaminérgicos D_1 e D_2 .

A diferença nas respostas da T_{interna} e da taxa de aquecimento corporal entre este estudo e o de Balthazar e colaboradores (2010) pode ter sido ocasionada pelo tipo de teste e/ou análise realizada, dado que os animais realizaram o teste progressivo até a fadiga. O aumento intervalado da intensidade no exercício progressivo ocasiona elevação acentuada e progressiva da taxa metabólica, resultando em produção intensa de calor que pode não ser compensada pelo aumento da dissipação cutânea de calor (SHELLOCK; RUBIN, 1984; RODRIGUES et al., 2003). Ademais, o descompasso entre as taxas de produção e dissipação de calor pode ser devido à saturação da capacidade de dissipação de calor e ao deterioramento da eficiência mecânica (CAMPOS et al., 2014) com o avançar do exercício progressivo.

Juntamente com esses achados, a redução do desempenho físico verificada no presente estudo sugere que o sistema dopaminérgico central age também em mecanismos de execução do exercício físico. De fato, a ausência de alterações na T_{interna} e na T_{cauda} , bem como nas variáveis índice térmico, índice de dissipação de calor e limiar e sensibilidade para dissipação cutânea de calor durante o exercício submáximo até a fadiga, apontam para uma possível intolerância a hipertermia, uma vez que os animais salina continuaram a realizar o exercício mesmo apresentando as mesmas respostas térmicas que os animais com o bloqueio central de receptor D_1 .

A elevação da T_{interna} e do acúmulo de calor durante o exercício físico são considerados como fatores limitantes do desempenho físico e precipitadores da fadiga (GONZÁLEZ-ALONSO et al., 1999; LEITE et al., 2006; WANNER et al.,

2007). A fadiga pode ser definida como prejuízo agudo do desempenho físico devido ao aumento da percepção de esforço, de força ou de potência requerida para execução do exercício físico e como incapacidade de produzir tal força ou potência (DAVIS; BAILEY, 1997; MEEUSEN; ROELANDS, 2017). A fadiga tem sido relacionada com causas multifatoriais de origem periférica ou central, sendo que a última pode ser causada por redução do SNC em proporcionar motivação adequada para os músculos ativos, assim como, pelo conteúdo dos neurotransmissores cerebrais serotonina, dopamina e noradrenalina, dentre outros fatores (GANDEVIA, 2001; NYBO; SECHER, 2004; MEEUSEN; ROELANDS, 2017).

A percepção do esforço, também denominada de esforço percebido ou senso de esforço, pode ser definida como a percepção/sensação consciente de uma tarefa física como sendo difícil, pesada ou extenuante (PAGEAUX, 2016; VAN CUTSEM et al., 2017). A percepção de esforço não consiste apenas em um marcador da intensidade do exercício, mas também como uma característica determinante da fadiga (MARCORA, 2009; PAGEAUX; LEPERS, 2016). Estudos enfatizam a relevância das sensações percebidas durante o exercício físico em causar a interrupção do mesmo, uma vez que o ponto final do exercício físico corresponderia ao momento no qual os fatores negativos, como, por exemplo, a fadiga e a dor muscular, são sentidos mais proeminentemente do que os fatores positivos como motivação e força de vontade (IKAI; STEINHAUS, 1961; SMIRMAUL, 2012). Nessa direção, a análise da T_{interna} em relação ao percentual do W Máximo realizado mostrou que os animais SAL atingiram o valor da T_{interna} final com 20% do W Máximo e ainda assim permaneceram correndo. Por sua vez, os animais SCH, apesar de atingirem T_{interna} semelhante a dos animais SAL ao final do trabalho realizado, não conseguiram sustentar a atividade física mesmo tendo apresentado elevação da T_{interna} menos acentuada em paralelo ao W Máximo realizado. Tendo em vista que a T_{interna} é um fator relevante na determinação da fadiga, tal aumento gradual em relação ao % W Máximo realizado na situação do bloqueio de D_1 deveria ter favorecido a continuidade do exercício. Esse achado aponta para a hipótese de que a redução do desempenho físico registrada na situação SCH não está relacionada às variáveis térmicas,

como esperado, mas possivelmente à percepção do esforço do exercício realizado.

No período de recuperação pós-exercício submáximo não foi observada diferença na T_{interna} entre as situações experimentais, sendo que em nenhuma delas a T_{interna} retornou ao valor basal correspondente ao início do exercício. Em contrapartida, estudo anterior verificou hipertermia mais intensa e persistente nos animais que tiveram os receptores de D_1 e D_2 bloqueados previamente ao exercício progressivo até a fadiga (BALTHAZAR et al., 2010). Para a T_{cauda} a diferença pós-exercício entre o bloqueio de D_1 e a situação SAL ocorreu apenas no momento da fadiga, no qual a T_{cauda} para a situação SCH foi menor do que aquela registrada em SAL. Diferentemente da T_{interna} , a T_{cauda} dos animais na situação experimental SAL e SCH retornou aos valores basais do início do exercício após o décimo quinto minuto.

Mediante esses achados, a modulação do sistema dopaminérgico sobre o desempenho físico aparentemente não está relacionada com modificações do balanço térmico. A T_{interna} e o acúmulo de calor alcançados na fadiga foram semelhantes tanto na situação salina quanto na situação do bloqueio dopaminérgico, fato que exclui a contribuição dessas variáveis para a antecipação da fadiga após o bloqueio de dos receptores D_1 . Dessa forma, diante da ausência de mudanças nas variáveis térmicas que justifiquem a redução do desempenho físico, as respostas de ativação neuronal apontam para a hipótese de que o bloqueio dos receptores D_1 possivelmente modificou a percepção de esforço do exercício realizado.

O exercício físico realizado em esteira promoveu ativação neuronal nos núcleos hipotalâmicos MPO, MnPO, PVN e SON em relação ao repouso, sendo que o PVN foi ativado com maior intensidade (562%) mediante o estímulo do exercício até a fadiga. Esses resultados corroboram os achados de que o exercício físico é estímulo importante para a ativação celular de núcleos hipotalâmicos (SOYA et al., 2007; LIMA et al., 2014; SANTIAGO et al., 2016). Estudos apontam que o exercício físico agudo realizado em esteira aumenta a expressão da proteína c-Fos no MPO e na divisão parvocelular do PVN (Soya et al., 2007; Timofeeva et al., 2003). A magnitude da ativação neuronal nesses

núcleos parece depender da intensidade do exercício, dado que a maior ativação foi observada durante o exercício de intensidade elevada, acima do limiar de lactato (SOYA et al., 2007). Além disso, tanto o aumento da T_{interna} quanto do acúmulo de calor parecem constituir estímulo significativo na indução da ativação neuronal da APO, do PVN e do SON. Ratos expostos a ambiente quente (37°C) apresentaram maior ativação neuronal da área pré-óptica, do PVN e do SON em relação àqueles animais que permaneceram em ambiente temperado (23°C) (BRATINCSÁK; PALKOVITS, 2004).

O exercício físico realizado pelos animais tratados com SCH-23390 aumentou a atividade neuronal nos núcleos MnPO, PVN e SON em relação aos animais SAL_{tSCH} , que realizaram o exercício de igual duração, e aos animais SCH no repouso. No grupo SCH exercício, o PVN também foi o núcleo com maior sensibilidade ao estímulo para a ativação neuronal (116%). Apesar dos animais SAL_{tSCH} terem realizado a mesma intensidade relativa do exercício físico que os animais SCH, apenas estes animais correram até a fadiga. Considerando que a fadiga também é determinada pelo aumento da percepção de esforço da força ou potência realizada durante o exercício físico (DAVIS; BAILEY, 1997; MEEUSEN; ROELANDS, 2017), e que não houve alterações no balanço térmico entre tais situações experimentais, a diferença encontrada na intensidade de ativação neuronal desses núcleos sugere uma possível relação com o esforço percebido durante o exercício submáximo. Tal ideia também é apoiada pela prerrogativa de que o sistema dopaminérgico central está diretamente envolvido com mecanismo de tolerância ao exercício físico em ambiente temperado (BALTHAZAR et al., 2009) como em ambiente quente (WATSON et al., 2005; HASEGAWA et al., 2008; ROELANDS et al., 2008a).

O efeito ergogênico em ambiente quente após o uso de bupropiona não foi relacionado com modificações na percepção de esforço dos participantes, fato que parece estar relacionado com a ação da DA no sistema de recompensa bem como na atenuação dos sinais inibitórios advindos do SNC para a interrupção do exercício em condições de hipertermia intensa (WATSON et al., 2005; HASEGAWA et al., 2008). Associado a isso, estruturas do sistema mesolímbico recebem e enviam projeções neurais para núcleos hipotalâmicos que estão

relacionados com o desempenho físico e respostas termorregulatórias (CANTERAS; SIMERLY; SWANSON, 1995; PITKÄNEN; SAVANDER; LEDOUX, 1997; BILANG-BLEUEL et al., 2002; BUSNARDO et al., 2010).

A APO além de desempenhar papel fundamental no controle dos ajustes termorregulatórios (ROMANOVSKY, 2007; ROMANOVSKY et al., 2009) também participa dos circuitos neurais associados às respostas comportamentais dado que recebe e envia projeções neurais para a amígdala (CANTERAS; SIMERLY; SWANSON, 1995). O complexo amigdalóide apresenta diversas funções como aprendizagem, memória, atenção, interpretação do significado emocional de estímulos sensoriais assim como percepção dos movimentos corporais (CANTERAS; SIMERLY; SWANSON, 1995; PITKÄNEN; SAVANDER; LEDOUX, 1997). O PVN além de participar de neurocircuitos relativos ao controle autonômico e neuroendócrino tem papel nas respostas comportamentais e motoras por estar relacionado com estruturas límbicas como, por exemplo, a amígdala e o núcleo accumbens (CANTERAS; SIMERLY; SWANSON, 1995; PITKÄNEN; SAVANDER; LEDOUX, 1997; BURKETT; YOUNG, 2012; BUSNARDO et al., 2010, 2013). O núcleo accumbens tem sido destacado como uma das regiões cerebrais relevantes para a regulação da atividade física uma vez que está envolvido tanto na motivação e recompensa quanto no controle motor (KNAB; LIGHTFOOT, 2010). Animais com depleção de dopamina no núcleo accumbens apresentam redução da atividade locomotora (COUSINS; SOKOLOWSKI; SALAMONE, 1993), bem como da motivação para realizar tarefas mais difíceis como, por exemplo, a transposição de barreira colocada em labirinto para conseguir porção extra de comida (SALAMONE; COUSINS; BUCHER, 1994; COUSINS et al., 1996). Outro núcleo hipotalâmico que participa das respostas comportamentais é o SON, o qual recebe e envia projeções neurais para amígdala medial, além de enviar eferências para o córtex (ALONSO; SZAFARCZYK; ASSENMACHER, 1986; CANTERAS; SIMERLY; SWANSON, 1995; PITKÄNEN; SAVANDER; LEDOUX, 1997). O complexo amigdalóide e o córtex recebem projeções dopaminérgicas advindas da área tegmentar ventral e fazem parte da via mesolímbica (KNAB; LIGHTFOOT, 2010). Tendo em vista que tais núcleos hipotalâmicos estão envolvidos com as respostas comportamentais e motoras, a maior ativação neuronal do MnPO, do PVN e do SON nos animais

com o bloqueio de D₁ em relação aos animais controle que realizaram o exercício físico com a mesma duração reforça a hipótese de que o bloqueio dopaminérgico modifica a percepção de esforço e, conseqüentemente, a tolerância ao exercício.

Nessa mesma direção, a semelhança na ativação neuronal dos núcleos MPO, MnPO, PVN e SON entre os animais SAL e SCH, apesar de terem realizado trabalho absoluto diferente até a fadiga, sugere que os animais com o bloqueio dopaminérgico tiveram redução da tolerância ao exercício físico. Isso porque, tanto os animais SAL e SCH realizaram o exercício até a capacidade máxima de esforço, uma vez que a fadiga corresponde ao momento em que a capacidade de executar trabalho não consegue ser mantida (WANNER et al., 2007; LEITE et al., 2010; COIMBRA; SOARES; LEITE, 2012) e, embora tenham tido diferença no trabalho absoluto realizado durante a corrida, a análise do %W Máximo realizado mostrou aumento gradual da T_{interna} nos animais SCH em relação aos animais SAL sendo que, mesmo assim, o estímulo para ativação dos núcleos hipotalâmicos foi semelhante. Aliado a isso, como o modelo experimental utilizado permite ao animal escolher entre permanecer correndo ou interromper o exercício ao atingir a fadiga, o recrutamento neuronal semelhante sugere que após o tratamento com SCH-23390 a percepção de esforço foi amplificada. Isto é, o exercício físico realizado com duração média de 13 minutos pelos animais SCH passou a ser percebido como um esforço intenso e máximo, semelhante àquele percebido aos 60 minutos pelos animais SAL.

Como discutido anteriormente, a percepção de esforço é um componente relevante da fadiga e, segundo os estudos, tal sensação consiste na consciência dos comandos motores centrais para os músculos podendo ser sugerido a participação do córtex cingulado anterior, o córtex insular, o tálamo bem como da dopamina no processo de percepção de esforço e de tomada de decisão durante o exercício (MARCORA, 2009; SMIRMAUL et al., 2017). De acordo com o modelo psicobiológico, a interrupção do exercício físico não é diretamente causada pela fadiga neuromuscular, mas por um processo de tomada de decisão baseado na percepção de esforço e na motivação potencial, a qual consiste no esforço máximo que se deseja executar para realizar determinada tarefa (MARCORA; BOSIO; DE MORREE, 2008; MARCORA; STAIANO, 2010; SMIRMAUL et al.,

2017). Portanto, a participação das vias mesolímbica/mesocortical e nigroestriatal tem papel importante na precipitação da fadiga e podem ter sido afetadas durante o tratamento com o bloqueador dopaminérgico.

Apesar de estudos relacionarem menor desempenho físico com a redução da motivação para a continuidade do exercício e com o aumento da percepção de esforço devido à elevação da T_{interna} e da taxa de acúmulo de calor (NYBO; NIELSEN, 2001; RODRIGUES et al., 2003; CHEUNG; SLEIVERT, 2004; MARINO, 2004; SCHLADER; STANNARD; MÜNDEL, 2010), no presente trabalho a alteração na motivação e na percepção de esforço parecem não estar relacionadas com o balanço térmico. Propõe-se que a microinjeção i.c.v. do antagonista de D_1 pode ter difundido por regiões periventriculares, atingindo centros termorregulatórios como a área APO/HA e, possivelmente, estruturas das vias mesolímbica/mesocortical e nigroestriatal. A redução da neurotransmissão dopaminérgica durante o exercício físico parece contribuir para o desenvolvimento da fadiga central por interferir nos neurocircuitos dopaminérgicos relacionados com o controle do movimento e com os mecanismos de recompensa (FOLEY; FLESHNER, 2008; ZHENG; HASEGAWA, 2016). O comprometimento da via mesolímbica causa prejuízo na motivação, na recompensa e na sensação de bem-estar, resultando em aumento da percepção de esforço (FOLEY; FLESHNER, 2008; BALTHAZAR et al., 2009, 2010; MEEUSEN; ROELANDS, 2010). Enquanto que o comprometimento da via nigroestriatal pode prejudicar o controle motor, bem como os mecanismos de reforço e recompensa para a execução do movimento (BROMBERG-MARTIN; MATSUMOTO; HIKOSAKA, 2010; KNAB; LIGHTFOOT, 2010; KRAVITZ; KREITZER, 2012; RABELO et al., 2015).

A ativação neuronal semelhante dos núcleos MnPO, PVN e SON nos animais SAL e SCH, embora estes tenham tido duração do exercício físico diferente até a fadiga, aponta para a possível hipótese de que a percepção de esforço aumentada no momento da fadiga possa ter sido o estímulo para a ativação neuronal desses núcleos. Em contrapartida, o núcleo hipotalâmico MPO, apesar de ser sensível ao estímulo do exercício físico, como mostrado nesses achados e em estudos anteriores (SOYA et al., 2007; SANTIAGO et al., 2016),

parece não ser tão sensível a percepção de esforço aumentada quanto o MnPO, o PVN e o SON. Tal suposição é baseada no fato de que a ativação neuronal no MPO foi similar entre os animais SAL_{tSCH} e SCH, os quais tiveram a mesma duração do exercício físico embora o grupo SCH tenha corrido até a fadiga.

Apesar do trabalho não ter focado em dosagens de monoaminas centrais como a 5-HT e a DA, é preciso considerar a possibilidade da razão 5-HT/DA também ter contribuído para a redução significativa do desempenho físico nos animais com o bloqueio de D₁. O aumento dessa razão está associado com a sensação de cansaço e motivação reduzida, as quais contribuem para a fadiga central (SOARES; COIMBRA; MARUBAYASHI, 2007; FOLEY; FLESHNER, 2008; LEITE et al., 2010). Considerando que o exercício físico eleva a atividade serotoninérgica (DAVIS; BAILEY, 1997; SOARES; COIMBRA; MARUBAYASHI, 2007), e que no presente trabalho foi realizado o bloqueio dos receptores dopaminérgicos D₁, existe a possibilidade de que a relação entre o conteúdo dos neurotransmissores 5-HT e DA pode ter sido alterada e, dessa forma, contribuído para a antecipação da fadiga nos animais tratados com SCH-23390.

6. CONCLUSÃO

Os resultados mostram que o bloqueio dos receptores dopaminérgicos D₁ causa redução expressiva do desempenho físico de ratos durante o exercício submáximo em esteira, sugerindo que tal receptor é importante para a modulação do desempenho físico durante o exercício de corrida em esteira. Uma vez que o efeito ergolítico não se relacionou com os ajustes termorregulatórios, tanto durante o exercício físico quanto durante o período pós-exercício, possivelmente as vias dopaminérgicas atuaram elevando a percepção de esforço.

Dentre as áreas cerebrais que estão relacionadas com o desempenho físico e que foram identificadas neste estudo, o PVN apresenta maior sensibilidade ao exercício físico. Ademais, o MnPO, o PVN e o SON apresentam maior envolvimento com a percepção da fadiga, enquanto que o MPO parece ser menos sensível a esta percepção.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, M. C. Vias efetoras no controle da termogênese e termorregulação comportamental: Participação do locus coeruleus e núcleo hipotalâmico dorsomedial. Tese (Doutorado em Fisiologia)—Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo, USP, 2006.
- ALONSO, G.; SZAFARCZYK, A.; ASSENMACHER, I. Radioautographic evidence that axons from the area of supraoptic nuclei in the rat project to extrahypothalamic brain regions. **Neuroscience Letters**, v. 66, n. 3, p. 251–256, 23 maio 1986.
- ANTUNES-RODRIGUES, J.; MCCANN, S. M. Water, sodium chloride, and food intake induced by injections of cholinergic and adrenergic drugs into the third ventricle of the rat brain. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. Society for Experimental Biology and Medicine (New York, N.Y.)**, v. 133, n. 4, p. 1464–1470, abr. 1970.
- ARIAS-CARRIÓN, O. et al. Dopaminergic reward system: a short integrative review. **International Archives of Medicine**, v. 3, n. 1, p. 24, 2010.
- BAILEY, S. P.; DAVIS, J. M.; AHLBORN, E. N. Neuroendocrine and substrate responses to altered brain 5-HT activity during prolonged exercise to fatigue. **Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)**, v. 74, n. 6, p. 3006–3012, jun. 1993.
- BALTHAZAR, C. H. et al. Performance-enhancing and thermoregulatory effects of intracerebroventricular dopamine in running rats. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 93, n. 4, p. 465–469, out. 2009.
- BALTHAZAR, C. H. et al. Effects of blockade of central dopamine D1 and D2 receptors on thermoregulation, metabolic rate and running performance. **Pharmacological reports: PR**, v. 62, n. 1, p. 54–61, fev. 2010.
- BALTHAZAR, C. H. Tonus dopaminérgico central: efeito ergogênico e influência no balanço térmico e energético durante o exercício físico de corrida com intensidade de esforço progressiva. Tese (Doutorado em Fisiologia e Farmacologia)—Instituto de Ciências Biológicas: Universidade Federal de Minas Gerais, UFMG, 2008.
- BARSTOW, T. J. Characterization of VO₂ kinetics during heavy exercise. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 26, n. 11, p. 1327–1334, nov. 1994.
- BEN-JONATHAN, N.; HNASKO, R. Dopamine as a prolactin (PRL) inhibitor. **Endocrine Reviews**, v. 22, n. 6, p. 724–763, dez. 2001.
- BILANG-BLEUEL, A. et al. Forced swimming evokes a biphasic response in CREB phosphorylation in extrahypothalamic limbic and neocortical brain structures in the rat. **The European Journal of Neuroscience**, v. 15, n. 6, p. 1048–1060, mar. 2002.

- BOULANT, J. A. Role of the preoptic-anterior hypothalamus in thermoregulation and fever. **Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 31 Suppl 5, p. S157-161, out. 2000.
- BRATINCSÁK, A.; PALKOVITS, M. Activation of brain areas in rat following warm and cold ambient exposure. **Neuroscience**, v. 127, n. 2, p. 385–397, jan. 2004.
- BRIDGE, M. W. et al. Responses to exercise in the heat related to measures of hypothalamic serotonergic and dopaminergic function. **European Journal of Applied Physiology**, v. 89, n. 5, p. 451–459, jun. 2003.
- BRIESE, E. Normal body temperature of rats: the setpoint controversy. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 22, n. 3, p. 427–436, maio 1998.
- BROMBERG-MARTIN, E. S.; MATSUMOTO, M.; HIKOSAKA, O. Dopamine in motivational control: rewarding, aversive, and alerting. **Neuron**, v. 68, n. 5, p. 815–834, 9 dez. 2010.
- BROOKS, G. A.; DONOVAN, C. M.; WHITE, T. P. Estimation of anaerobic energy production and efficiency in rats during exercise. **Journal of Applied Physiology: Respiratory, Environmental and Exercise Physiology**, v. 56, n. 2, p. 520–525, fev. 1984.
- BURKETT, J. P.; YOUNG, L. J. The behavioral, anatomical and pharmacological parallels between social attachment, love and addiction. **Psychopharmacology**, v. 224, n. 1, p. 1–26, nov. 2012.
- BUSNARDO, C. et al. Paraventricular nucleus modulates autonomic and neuroendocrine responses to acute restraint stress in rats. **Autonomic Neuroscience: Basic & Clinical**, v. 158, n. 1–2, p. 51–57, 8 dez. 2010.
- BUSNARDO, C. et al. Paraventricular nucleus of the hypothalamus glutamate neurotransmission modulates autonomic, neuroendocrine and behavioral responses to acute restraint stress in rats. **European Neuropsychopharmacology: The Journal of the European College of Neuropsychopharmacology**, v. 23, n. 11, p. 1611–1622, nov. 2013.
- CAMPOS, H. O. et al. Temperature Control of Hypertensive Rats during Moderate Exercise in Warm Environment. **Journal of Sports Science & Medicine**, v. 13, n. 3, p. 695–701, set. 2014.
- CANTERAS, N. S.; SIMERLY, R. B.; SWANSON, L. W. Organization of projections from the medial nucleus of the amygdala: a PHAL study in the rat. **The Journal of Comparative Neurology**, v. 360, n. 2, p. 213–245, 18 set. 1995.

- CHAM, J. L. et al. Activation of spinally projecting and nitroergic neurons in the PVN following heat exposure. **AJP: Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 291, n. 1, p. R91–R101, 16 fev. 2006.
- CHAM, J. L.; BADOER, E. Hypothalamic paraventricular nucleus is critical for renal vasoconstriction elicited by elevations in body temperature. **AJP: Renal Physiology**, v. 294, n. 2, p. F309–F315, 2008.
- CHAOULOFF, F. et al. Amphetamine and alpha-methyl-p-tyrosine affect the exercise-induced imbalance between the availability of tryptophan and synthesis of serotonin in the brain of the rat. **Neuropharmacology**, v. 26, n. 8, p. 1099–1106, ago. 1987.
- CHAOULOFF, F. Physical exercise and brain monoamines: a review. **Acta Physiologica Scandinavica**, v. 137, n. 1, p. 1–13, set. 1989.
- CHEN, X. M. et al. New apparatus for studying behavioral thermoregulation in rats. **Physiology & Behavior**, v. 64, n. 3, p. 419–424, 1 jun. 1998.
- CHEUNG, S. S.; SLEIVERT, G. G. Multiple triggers for hyperthermic fatigue and exhaustion. **Exercise and Sport Sciences Reviews**, v. 32, n. 3, p. 100–106, jul. 2004.
- COIMBRA, C.; SOARES, D.; LEITE, L. H. R. The Involvement of Brain Monoamines in the Onset of Hyperthermic Central Fatigue. In: ZASLAV, K. R. (Ed.). **An International Perspective on Topics in Sports Medicine and Sports Injury**. [s.l.] InTech, 2012.
- CORDEIRO, L. M. S. et al. Inhibition of tryptophan hydroxylase abolishes fatigue induced by central tryptophan in exercising rats. **Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports**, v. 24, n. 1, p. 80–88, fev. 2014.
- COUSINS, M. S. et al. Nucleus accumbens dopamine depletions alter relative response allocation in a T-maze cost/benefit task. **Behavioural Brain Research**, v. 74, n. 1–2, p. 189–197, jan. 1996.
- COUSINS, M. S.; SOKOLOWSKI, J. D.; SALAMONE, J. D. Different effects of nucleus accumbens and ventrolateral striatal dopamine depletions on instrumental response selection in the rat. **Pharmacology, Biochemistry, and Behavior**, v. 46, n. 4, p. 943–951, dez. 1993.
- COX, B. et al. A dopamine-5-hydroxytryptamine link in the hypothalamic pathways which mediate heat loss in the rat. **The Journal of Physiology**, v. 303, p. 9–21, jun. 1980.
- COX, B.; KERWIN, R.; LEE, T. F. Dopamine receptors in the central thermoregulatory pathways of the rat. **The Journal of Physiology**, v. 282, p. 471–483, set. 1978.

- COX, B.; LEE, T. F. Further evidence for a physiological role for hypothalamic dopamine in thermoregulation in the rat. **The Journal of Physiology**, v. 300, p. 7–17, mar. 1980.
- COYLE, E. F. Physical activity as a metabolic stressor. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 72, n. 2 Suppl, p. 512S–20S, ago. 2000.
- DAVIS, J. M.; BAILEY, S. P. Possible mechanisms of central nervous system fatigue during exercise. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 29, n. 1, p. 45–57, jan. 1997.
- DONATTI, A. F. et al. Involvement of endogenous hydrogen sulfide (H₂S) in the rostral ventrolateral medulla (RVLM) in hypoxia-induced hypothermia. **Brain Research Bulletin**, v. 108, p. 94–99, set. 2014.
- DRUMMOND, L. R. et al. Brain Temperature in Spontaneously Hypertensive Rats during Physical Exercise in Temperate and Warm Environments. **PLOS ONE**, v. 11, n. 5, p. e0155919, 23 maio 2016.
- FOLEY, T. E. et al. Elevated central monoamine receptor mRNA in rats bred for high endurance capacity: implications for central fatigue. **Behavioural Brain Research**, v. 174, n. 1, p. 132–142, 1 nov. 2006.
- FOLEY, T. E.; FLESHNER, M. Neuroplasticity of dopamine circuits after exercise: implications for central fatigue. **Neuromolecular Medicine**, v. 10, n. 2, p. 67–80, 2008.
- FREED, C. R.; YAMAMOTO, B. K. Regional brain dopamine metabolism: a marker for the speed, direction, and posture of moving animals. **Science (New York, N.Y.)**, v. 229, n. 4708, p. 62–65, 5 jul. 1985.
- FULLER, A.; CARTER, R. N.; MITCHELL, D. Brain and abdominal temperatures at fatigue in rats exercising in the heat. **Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)**, v. 84, n. 3, p. 877–883, mar. 1998.
- GALBO, H. The hormonal response to exercise. **Diabetes/Metabolism Reviews**, v. 1, n. 4, p. 385–408, 1985.
- GANDEVIA, S. C. Spinal and supraspinal factors in human muscle fatigue. **Physiological Reviews**, v. 81, n. 4, p. 1725–1789, out. 2001.
- GARDNER, D. G.; GREENSPAN, F. S. (EDS.). **Greenspan's basic & clinical endocrinology**. 9. ed ed. New York: McGraw Hill Medical, 2011.
- GERALD, M. C. Effects of (+)-amphetamine on the treadmill endurance performance of rats. **Neuropharmacology**, v. 17, n. 9, p. 703–704, set. 1978.
- GLEESON, M. Temperature regulation during exercise. **International Journal of Sports Medicine**, v. 19 Suppl 2, p. S96-99, jun. 1998.

- GONZÁLEZ-ALONSO, J. et al. Influence of body temperature on the development of fatigue during prolonged exercise in the heat. **Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)**, v. 86, n. 3, p. 1032–1039, mar. 1999.
- GOODMAN, L. S.; GILMAN, A. G.; BRUNTON, L. L. **As bases farmacológicas da terapêutica**. Porto Alegre (RS): AMGH, 2010.
- GORDON, C. J. Thermal biology of the laboratory rat. **Physiology & Behavior**, v. 47, n. 5, p. 963–991, maio 1990.
- GREENSTEIN, B.; GREENSTEIN, A. **Color atlas of neuroscience: neuroanatomy and neurophysiology**. Stuttgart; New York: Thieme, 2000.
- GURRERA, R. J. Sympathoadrenal hyperactivity and the etiology of neuroleptic malignant syndrome. **The American Journal of Psychiatry**, v. 156, n. 2, p. 169–180, fev. 1999.
- HAMMEL, H. T. et al. Temperature regulation by hypothalamic proportional control with an adjustable set point. **Journal of Applied Physiology**, v. 18, p. 1146–1154, nov. 1963.
- HARRI, M.; KUUSELA, P.; OKSANEN-ROSSI, R. Temperature responses of rats to treadmill exercise, and the effect of thermoregulatory capacity. **Acta Physiologica Scandinavica**, v. 115, n. 1, p. 79–84, maio 1982.
- HARTLEY, L. H. et al. Multiple hormonal responses to graded exercise in relation to physical training. **Journal of Applied Physiology**, v. 33, n. 5, p. 602–606, nov. 1972.
- HASEGAWA, H. et al. Inhibition of the preoptic area and anterior hypothalamus by tetrodotoxin alters thermoregulatory functions in exercising rats. **Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)**, v. 98, n. 4, p. 1458–1462, abr. 2005.
- HASEGAWA, H. et al. Influence of brain catecholamines on the development of fatigue in exercising rats in the heat: Effect of bupropion on thermoregulation and exercise performance. **The Journal of Physiology**, v. 586, n. 1, p. 141–149, 1 jan. 2008.
- HEYES, M. P.; GARNETT, E. S.; COATES, G. Central dopaminergic activity influences rats ability to exercise. **Life Sciences**, v. 36, n. 7, p. 671–677, 18 fev. 1985.
- HEYES, M. P.; GARNETT, E. S.; COATES, G. Nigrostriatal dopaminergic activity is increased during exhaustive exercise stress in rats. **Life Sciences**, v. 42, n. 16, p. 1537–1542, 1988.

- IKAI, M.; STEINHAUS, A. H. Some factors modifying the expression of human strength. **Journal of Applied Physiology**, v. 16, p. 157–163, jan. 1961.
- JACKSON, D. M.; WESTLIND-DANIELSSON, A. Dopamine receptors: molecular biology, biochemistry and behavioural aspects. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 64, n. 2, p. 291–370, 1994.
- KANOSUE, K. et al. Neuronal networks controlling thermoregulatory effectors. **Progress in Brain Research**, v. 115, p. 49–62, 1998.
- KAZUYUKI, K. et al. Neuronal networks controlling thermoregulatory effectors. **Progress in Brain Research**, v. 115, p. 49–62, 1998.
- KNAB, A. M.; LIGHTFOOT, J. T. Does the difference between physically active and couch potato lie in the dopamine system? **International Journal of Biological Sciences**, v. 6, n. 2, p. 133–150, 9 mar. 2010.
- KRAVITZ, A. V.; KREITZER, A. C. Striatal mechanisms underlying movement, reinforcement, and punishment. **Physiology (Bethesda, Md.)**, v. 27, n. 3, p. 167–177, jun. 2012.
- LACERDA, A. C. R. **Papel do óxido nítrico central na termorregulação durante o exercício físico em ratos**. Tese (Doutorado em Fisiologia e Farmacologia)—Instituto de Ciências Biológicas: Universidade Federal de Minas Gerais, UFMG, 2006.
- LACERDA, A. C. R. et al. Evidence that brain nitric oxide inhibition increases metabolic cost of exercise, reducing running performance in rats. **Neuroscience Letters**, v. 393, n. 2–3, p. 260–263, 30 jan. 2006.
- LACERDA, A. C. R.; MARUBAYASHI, U.; COIMBRA, C. C. Nitric oxide pathway is an important modulator of heat loss in rats during exercise. **Brain Research Bulletin**, v. 67, n. 1–2, p. 110–116, set. 2005.
- LACHOWICZ, J. E.; SIBLEY, D. R. Molecular characteristics of mammalian dopamine receptors. **Pharmacology & Toxicology**, v. 81, n. 3, p. 105–113, set. 1997.
- LEITE, L. H. R. et al. Central angiotensin AT1-receptor blockade affects thermoregulation and running performance in rats. **American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 291, n. 3, p. R603-607, set. 2006.
- LEITE, L. H. R. et al. Central fatigue induced by losartan involves brain serotonin and dopamine content. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 42, n. 8, p. 1469–1476, ago. 2010.

- LEITE, L. H. R. et al. Contribution of the paraventricular nucleus in autonomic adjustments to heat stress. **Experimental Biology and Medicine**, v. 237, n. 5, p. 570–577, 1 maio 2012.
- LI, Y.-F. et al. Interaction between glutamate and GABA systems in the integration of sympathetic outflow by the paraventricular nucleus of the hypothalamus. **AJP: Heart and Circulatory Physiology**, v. 291, n. 6, p. H2847–H2856, 1 dez. 2006.
- LIMA, N. R.; COIMBRA, C. C.; MARUBAYASHI, U. Effect of intracerebroventricular injection of atropine on metabolic responses during exercise in untrained rats. **Physiology & Behavior**, v. 64, n. 1, p. 69–74, abr. 1998.
- LIMA, P. M. A. et al. Central blockade of nitric oxide transmission impairs exercise-induced neuronal activation in the PVN and reduces physical performance. **Brain Research Bulletin**, v. 108, p. 80–87, set. 2014.
- MADDEN, C. J.; MORRISON, S. F. Neurons in the paraventricular nucleus of the hypothalamus inhibit sympathetic outflow to brown adipose tissue. **AJP: Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 296, n. 3, p. R831–R843, 2009.
- MARCORA, S. Perception of effort during exercise is independent of afferent feedback from skeletal muscles, heart, and lungs. **Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)**, v. 106, n. 6, p. 2060–2062, jun. 2009.
- MARCORA, S. M.; BOSIO, A.; DE MORREE, H. M. Locomotor muscle fatigue increases cardiorespiratory responses and reduces performance during intense cycling exercise independently from metabolic stress. **American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 294, n. 3, p. R874-883, mar. 2008.
- MARCORA, S. M.; STAIANO, W. The limit to exercise tolerance in humans: mind over muscle? **European Journal of Applied Physiology**, v. 109, n. 4, p. 763–770, jul. 2010.
- MARINO, F. E. Anticipatory regulation and avoidance of catastrophe during exercise-induced hyperthermia. **Comparative Biochemistry and Physiology. Part B, Biochemistry & Molecular Biology**, v. 139, n. 4, p. 561–569, dez. 2004.
- MCALLEN, R. M. et al. Multiple thermoregulatory effectors with independent central controls. **European Journal of Applied Physiology**, v. 109, n. 1, p. 27–33, maio 2010.
- MCALLISTER, R. M.; HIRAI, T.; MUSCH, T. I. Contribution of endothelium-derived nitric oxide (EDNO) to the skeletal muscle blood flow response to

- exercise. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 27, n. 8, p. 1145–1151, ago. 1995.
- MEEUSEN, R.; ROELANDS, B. Central fatigue and neurotransmitters, can thermoregulation be manipulated?: Central fatigue. **Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports**, v. 20, p. 19–28, 4 out. 2010.
 - MEEUSEN, R.; ROELANDS, B. Fatigue: Is it all neurochemistry? **European Journal of Sport Science**, p. 1–10, 19 mar. 2017.
 - MISSALE, C. et al. Dopamine receptors: from structure to function. **Physiological Reviews**, v. 78, n. 1, p. 189–225, jan. 1998.
 - MORRISON, S. F.; NAKAMURA, K.; MADDEN, C. J. Central control of thermogenesis in mammals. **Experimental Physiology**, v. 93, n. 7, p. 773–797, jul. 2008.
 - NAGASHIMA, K. et al. Neuronal circuitries involved in thermoregulation. **Autonomic Neuroscience: Basic & Clinical**, v. 85, n. 1–3, p. 18–25, 20 dez. 2000.
 - NAGASHIMA, K. Central mechanisms for thermoregulation in a hot environment. **Industrial Health**, v. 44, n. 3, p. 359–367, jul. 2006.
 - NAKAMURA, K. Central circuitries for body temperature regulation and fever. **AJP: Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 301, n. 5, p. R1207–R1228, 1 nov. 2011.
 - NAKAMURA, K.; MORRISON, S. F. Central efferent pathways mediating skin cooling-evoked sympathetic thermogenesis in brown adipose tissue. **American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 292, n. 1, p. R127-136, jan. 2007.
 - NAKAMURA, K.; MORRISON, S. F. A thermosensory pathway that controls body temperature. **Nature Neuroscience**, v. 11, n. 1, p. 62–71, jan. 2008.
 - NEWSHOLME, E. A.; BLOMSTRAND, E. The plasma level of some amino acids and physical and mental fatigue. **Experientia**, v. 52, n. 5, p. 413–415, 15 maio 1996.
 - NICHOLLS, D. G. **Proteins, transmitters, and synapses**. Oxford ; Boston: Blackwell Scientific Publications, 1994.
 - NOGUEIRA, J. E. et al. Effect of Physical Exercise on the Febrigenic Signaling is Modulated by Preoptic Hydrogen Sulfide Production. **PLOS ONE**, v. 12, n. 1, p. e0170468, 24 jan. 2017.
 - NUÑEZ, P. et al. Progressive training effects on neuronal hypothalamic activation in the rat. **Neuroscience Letters**, v. 517, n. 2, p. 113–117, 31 maio 2012.

- NYBO, L.; NIELSEN, B. Perceived exertion is associated with an altered brain activity during exercise with progressive hyperthermia. **Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)**, v. 91, n. 5, p. 2017–2023, nov. 2001.
- NYBO, L.; SECHER, N. H. Cerebral perturbations provoked by prolonged exercise. **Progress in Neurobiology**, v. 72, n. 4, p. 223–261, mar. 2004.
- PAGEAUX, B. Perception of effort in Exercise Science: Definition, measurement and perspectives. **European Journal of Sport Science**, v. 16, n. 8, p. 885–894, nov. 2016.
- PAGEAUX, B.; LEPERS, R. Fatigue Induced by Physical and Mental Exertion Increases Perception of Effort and Impairs Subsequent Endurance Performance. **Frontiers in Physiology**, v. 7, p. 587, 2016.
- PATEL, K. P. Role of paraventricular nucleus in mediating sympathetic outflow in heart failure. **Heart Failure Reviews**, v. 5, n. 1, p. 73–86, mar. 2000.
- PAXINOS, G.; WATSON, C. **The rat brain in stereotaxic coordinates**. [s.l: s.n.].
- PIRES, W. et al. Intracerebroventricular physostigmine enhances blood pressure and heat loss in running rats. **Journal of Physiology and Pharmacology: An Official Journal of the Polish Physiological Society**, v. 58, n. 1, p. 3–17, mar. 2007.
- PITKÄNEN, A.; SAVANDER, V.; LEDOUX, J. E. Organization of intra-amygdaloid circuitries in the rat: an emerging framework for understanding functions of the amygdala. **Trends in Neurosciences**, v. 20, n. 11, p. 517–523, nov. 1997.
- PRÍMOLA-GOMES, T. N. et al. Activation of the central cholinergic pathway increases post-exercise tail heat loss in rats. **Neuroscience Letters**, v. 413, n. 1, p. 1–5, 8 fev. 2007.
- 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, mar. 2015.
- RANG, H. P. **Rang & Dale farmacologia**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012.
- RODRIGUES, A. G. et al. Intracerebroventricular physostigmine facilitates heat loss mechanisms in running rats. **Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)**, v. 97, n. 1, p. 333–338, jul. 2004.
- RODRIGUES, L. O. C. et al. Heat storage rate and acute fatigue in rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research = Revista**

Brasileira De Pesquisas Medicas E Biologicas, v. 36, n. 1, p. 131–135, jan. 2003.

- ROELANDS, B. et al. The effects of acute dopamine reuptake inhibition on performance. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 40, n. 5, p. 879–885, maio 2008a.
- ROELANDS, B. et al. Acute norepinephrine reuptake inhibition decreases performance in normal and high ambient temperature. **Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)**, v. 105, n. 1, p. 206–212, jul. 2008b.
- ROMANOVSKY, A. A. Thermoregulation: some concepts have changed. Functional architecture of the thermoregulatory system. **American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 292, n. 1, p. R37-46, jan. 2007.
- ROMANOVSKY, A. A. et al. The Transient Receptor Potential Vanilloid-1 Channel in Thermoregulation: A Thermosensor It Is Not. **Pharmacological Reviews**, v. 61, n. 3, p. 228–261, 1 set. 2009.
- ROMANOVSKY, A. A.; BLATTEIS, C. M. Heat stroke: opioid-mediated mechanisms. **Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)**, v. 81, n. 6, p. 2565–2570, dez. 1996.
- ROMANOVSKY, A. A.; IVANOV, A. I.; SHIMANSKY, Y. P. Selected Contribution: Ambient temperature for experiments in rats: a new method for determining the zone of thermal neutrality. **Journal of Applied Physiology**, v. 92, n. 6, p. 2667–2679, 1 jun. 2002.
- SALAMONE, J. D.; COUSINS, M. S.; BUCHER, S. Anhedonia or anergia? Effects of haloperidol and nucleus accumbens dopamine depletion on instrumental response selection in a T-maze cost/benefit procedure. **Behavioural Brain Research**, v. 65, n. 2, p. 221–229, 15 dez. 1994.
- SANTIAGO, H. P. et al. The improvement of exercise performance by physical training is related to increased hypothalamic neuronal activation. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 43, n. 1, p. 116–124, jan. 2016.
- SCHLADER, Z. J.; STANNARD, S. R.; MÜNDEL, T. Human thermoregulatory behavior during rest and exercise - a prospective review. **Physiology & Behavior**, v. 99, n. 3, p. 269–275, 3 mar. 2010.
- SHELLOCK, F. G.; RUBIN, S. A. Temperature regulation during treadmill exercise in the rat. **Journal of Applied Physiology: Respiratory, Environmental and Exercise Physiology**, v. 57, n. 6, p. 1872–1877, dez. 1984.

- SMIRMAUL, B. DE P. C. Sense of effort and other unpleasant sensations during exercise: clarifying concepts and mechanisms. **British Journal of Sports Medicine**, v. 46, n. 5, p. 308–311, abr. 2012.
- SMIRMAUL, B. P. C. et al. Effects of caffeine on neuromuscular fatigue and performance during high-intensity cycling exercise in moderate hypoxia. **European Journal of Applied Physiology**, v. 117, n. 1, p. 27–38, jan. 2017.
- SMITH, J. E. et al. CNS cell groups projecting to sympathetic outflow of tail artery: neural circuits involved in heat loss in the rat. **Brain Research**, v. 786, n. 1–2, p. 153–164, 9 mar. 1998.
- SOARES, D. D. et al. Evidence that tryptophan reduces mechanical efficiency and running performance in rats. **Pharmacology, Biochemistry, and Behavior**, v. 74, n. 2, p. 357–362, jan. 2003.
- SOARES, D. D.; COIMBRA, C. C.; MARUBAYASHI, U. Tryptophan-induced central fatigue in exercising rats is related to serotonin content in preoptic area. **Neuroscience Letters**, v. 415, n. 3, p. 274–278, mar. 2007.
- SOYA, H. et al. Threshold-like pattern of neuronal activation in the hypothalamus during treadmill running: Establishment of a minimum running stress (MRS) rat model. **Neuroscience Research**, v. 58, n. 4, p. 341–348, ago. 2007.
- VALLONE, D.; PICETTI, R.; BORRELLI, E. Structure and function of dopamine receptors. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 24, n. 1, p. 125–132, jan. 2000.
- VAN CUTSEM, J. et al. The Effects of Mental Fatigue on Physical Performance: A Systematic Review. **Sports Medicine (Auckland, N.Z.)**, 2 jan. 2017.
- WALTERS, T. J. et al. Exercise in the heat is limited by a critical internal temperature. **Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)**, v. 89, n. 2, p. 799–806, ago. 2000.
- WANNER, S. P. **O exercício físico induz ajustes termorregulatórios e cardiovasculares que são mediados pela neurotransmissão colinérgica dos núcleos ventromediais hipotalâmicos.** Dissertação (Mestrado em Educação Física—Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional: Universidade Federal de Minas Gerais, UFMG, 2006.
- WANNER, S. P. et al. Muscarinic cholinceptors in the ventromedial hypothalamic nucleus facilitate tail heat loss during physical exercise. **Brain Research Bulletin**, v. 73, n. 1–3, p. 28–33, jun. 2007.

- WATSON, P. et al. Acute dopamine/noradrenaline reuptake inhibition enhances human exercise performance in warm, but not temperate conditions. **The Journal of Physiology**, v. 565, n. Pt 3, p. 873–883, 15 jun. 2005.
- WEBB, P. The physiology of heat regulation. **Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol**, v. 268, p. 838–850, 1995.
- WERNER, J. The concept of regulation for human body temperature. **Journal of Thermal Biology**, v. 5, n. 2, p. 75–82, abr. 1980.
- WILSON, N. C. et al. Colonic and tail-skin temperature responses of the rat at selected running speeds. **Journal of Applied Physiology: Respiratory, Environmental and Exercise Physiology**, v. 44, n. 4, p. 571–575, abr. 1978.
- WISE, R. A. Dopamine, learning and motivation. **Nature Reviews. Neuroscience**, v. 5, n. 6, p. 483–494, jun. 2004.
- YOSHIDA, K. et al. Fos expression induced by warming the preoptic area in rats. **Brain Research**, v. 933, n. 2, p. 109–117, 19 abr. 2002.
- ZHENG, X.; HASEGAWA, H. Central dopaminergic neurotransmission plays an important role in thermoregulation and performance during endurance exercise. **European Journal of Sport Science**, v. 16, n. 7, p. 818–828, out. 2016.