

Henrique Pereira Santiago

**INFLUÊNCIA DO TREINAMENTO EM ESTEIRA SOBRE A
ATIVIDADE DE NEURÔNIOS VASOPRESSINÉRGICOS E
OCITOCINÉRGICOS EM RATOS HIPERTENSOS**

Universidade Federal de Minas Gerais
Instituto de Ciências Biológicas
Departamento de Fisiologia e Biofísica
Belo Horizonte – Minas Gerais
2017

**INFLUÊNCIA DO TREINAMENTO EM ESTEIRA SOBRE A
ATIVIDADE DE NEURÔNIOS VASOPRESSINÉRGICOS E
OCITOCINÉRGICOS EM RATOS HIPERTENSOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia e Farmacologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Ciências Biológicas com área de concentração em Fisiologia.

Orientador: Prof. Dr. Cândido Celso Coimbra

Coorientador: Prof. Dr. Raphael Escorsim Szawka

Belo Horizonte – Minas Gerais
2017

O presente trabalho foi 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 de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenadoria de Apoio ao Pessoal de Nível Superior (CAPES), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG).

À minha querida e amada Laura

Aos meus filhos, Breno e Diana

Aos meus pais, Luiz e Mirian

AGRADECIMENTOS

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

Ao Prof. Raphael pela contribuição no desenvolvimento de todas as etapas deste estudo.

À Profa. Adelina pelo apoio constante.

Ao Paulo e à Daniela pela ajuda na realização da técnica de Imunohistoquímica.

Ao Iuri, à Solange e à Simone por compartilharem o conhecimento técnico fundamental para a condução deste estudo.

A todos os amigos do Laboratório de Endocrinologia e Metabolismo pela convivência engrandecedora, em especial ao Paulo, à Daniela, à Quezia, ao Daniel, ao Frederico, ao Helton e ao Lucas.

Ao Cesar e à Virginia, pelo apoio constante na realização deste trabalho.

À secretaria do colegiado de Pós-Graduação.

Às agências financiadoras.

ÍNDICE

RESUMO.....	09
ABSTRACT.....	12
INTRODUÇÃO.....	15
CENTROS NERVOSOS REGULADORES DA TEMPERATURA CORPORAL INTERNA.....	15
VARIAÇÃO DA TEMPERATURA CORPORAL INTERNA DURANTE O EXERCÍCIO FÍSICO.....	19
FADIGA E EXERCÍCIO FÍSICO.....	21
HIPERTENSÃO ARTERIAL E TERMORREGULAÇÃO DURANTE O EXERCÍCIO FÍSICO.....	22
TREINAMENTO FÍSICO.....	23
OBJETIVOS.....	25
OBJETIVO GERAL.....	25
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	25
MATERIAIS E MÉTODOS.....	26
ANIMAIS.....	26
FAMILIARIZAÇÃO AO EXERCÍCIO FÍSICO.....	26
TREINAMENTO AERÓBIO.....	27
IMPLANTE DO SENSOR DE TEMPERATURA CORPORAL INTERNA.....	29
REGISTRO DA TEMPERATURA AMBIENTE, DA TEMPERATURA CORPORAL INTERNA E DA TEMPERATURA DA CAUDA.....	29
EXERCÍCIO PROGRESSIVO ATÉ A FADIGA.....	30

CÁLCULOS.....	31
IMUNOHISTOQUÍMICA.....	31
ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	33
RESULTADOS.....	34
Efeito do treinamento físico sobre o trabalho realizado durante o exercício.....	34
Efeito do treinamento físico sobre o tempo até a fadiga e o balanço térmico durante o exercício.....	35
Efeito do treinamento físico sobre a taxa de aquecimento corporal e a taxa de acúmulo de calor.....	37
Efeito do treinamento físico sobre o limiar de temperatura corporal interna para vasodilatação da pele.....	39
Efeito do treinamento físico sobre a ativação neuronal do MnPO em decorrência do exercício.....	40
Efeito do treinamento físico sobre a ativação neuronal do MPO em decorrência do exercício.....	42
Efeito do treinamento físico sobre a ativação neuronal e a expressão de vasopressina no PVN em decorrência do exercício.....	44
Efeito do treinamento físico sobre a expressão de ocitocina no PVN em decorrência do exercício.....	48
Efeito do treinamento físico sobre a ativação neuronal e a expressão de vasopressina no SON em decorrência do exercício.....	51
Efeito do treinamento físico sobre a expressão de ocitocina no SON em decorrência do exercício.....	55
Correlação entre a imunomarcagem de c-Fos no MnPO e MPO e o trabalho realizado durante o exercício.....	58

Correlação entre a imunomarcação de c-Fos e a expressão de vasopressina no PVN e o trabalho realizado durante o exercício.....	59
Correlação entre a imunomarcação de c-Fos e a expressão de ocitocina no PVN e o trabalho realizado durante o exercício.....	61
Correlação entre a imunomarcação de c-Fos e a expressão de vasopressina no SON e o trabalho realizado durante o exercício.....	62
Correlação entre a imunomarcação de c-Fos e a expressão de ocitocina no SON e o trabalho realizado durante o exercício.....	64
DISCUSSÃO.....	65
CONCLUSÃO.....	74
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	75

RESUMO

Objetivo: verificar as alterações induzidas pelo treinamento físico na ativação neuronal e na expressão de vasopressina e ocitocina hipotalâmica em ratos SHR em decorrência do exercício progressivo até a fadiga, e se estas são acompanhadas por modificações no balanço térmico e no desempenho físico. **Material e métodos:** foram utilizados ratos Wistar normotensos (pressão sistólica $104 \pm 2,7$ mmHg) e SHR (pressão sistólica $170 \pm 2,6$ mmHg), com idade entre 3-4 semanas, os quais foram divididos em: (1) grupo Wistar treinado; (2) grupo Wistar não treinado; (3) grupo Wistar naïf; (4) grupo SHR treinado; (5) grupo SHR não treinado; (6) grupo SHR naïf. O protocolo de treinamento físico consistiu de corrida em esteira durante 8 semanas/5 dias por semana. A intensidade e a duração do exercício foram aumentadas gradualmente até que os animais atingissem a velocidade de 25 m/min durante 60 minutos. Transcorrido o treinamento físico, os animais dos grupos Wistar e SHR treinados e não treinados foram submetidos à sessão de exercício progressivo até a fadiga (velocidade inicial de 10 m/min, com aumento de 1 m/min a cada 3 minutos, 5% de inclinação da esteira). Enquanto os animais realizavam o teste de exercício progressivo, a temperatura corporal interna, a temperatura da cauda e o tempo de exercício até a fadiga foram registrados. A partir dos dados obtidos foram calculados: o trabalho realizado, a taxa de aquecimento corporal, a taxa de acúmulo de calor e o limiar térmico para vasodilatação da cauda. Noventa minutos após o final da sessão de exercício físico progressivo, os cérebros dos animais foram preparados para a realização do procedimento de imunohistoquímica. Foi realizada imunomarcção para a proteína Fos e para os peptídeos vasopressina e ocitocina nas seguintes áreas hipotalâmicas: núcleo pré-óptico mediano (MnPO), núcleo pré-óptico medial (MPO), núcleo paraventricular do hipotálamo (PVN) e núcleo supraóptico (SON). **Resultados:** como esperado, os animais treinados normotensos e hipertensos apresentaram tempo de exercício

até a fadiga maior em comparação aos animais não treinados correspondentes (Wistar: $73,2 \pm 3,5$ min, treinados vs $39,2 \pm 2,1$ min, não treinados; SHR: $41,3 \pm 2,0$ min, treinados vs $25,7 \pm 0,6$ min, não treinados, $p < 0,01$), além de aumento do trabalho realizado ($p < 0,01$). Verificou-se que os animais SHR não treinados e treinados apresentaram maior temperatura corporal interna, em relação aos animais Wistar não treinados e treinados, a partir de 12 e 6 minutos de exercício físico, respectivamente. Em relação à cauda, os animais SHR apresentaram temperatura semelhante aos animais Wistar. O limiar térmico para vasodilatação da cauda também foi semelhante entre os animais SHR e Wistar. Tanto os animais SHR treinados quanto não treinados apresentaram desequilíbrio térmico caracterizado por aumento de 300% e 266%, respectivamente, da taxa de aquecimento corporal, e de 304% e 216%, respectivamente, da taxa de acúmulo de calor em comparação aos animais Wistar correspondentes. O treinamento físico aumentou a imunomarcagem de c-Fos no MnPO, no MPO e no PVN de ratos Wistar e SHR comparados aos animais não treinados, sendo esta resposta reduzida nos ratos SHR ($p < 0,01$). Contudo, o treinamento físico não alterou a expressão de c-Fos no SON dos animais SHR e Wistar. As imunomarcações para vasopressina e ocitocina no PVN, co-localizadas ou não com c-Fos, foram maiores nos animais treinados em comparação com seus respectivos controles não treinados ($p < 0,01$), sendo a resposta menor nos ratos SHR ($p < 0,01$). O treinamento físico não alterou a densidade de neurônios vasopressinérgicos e ocitocinérgicos no SON ($p < 0,01$). Entretanto, a expressão de vasopressina e ocitocina no SON dos animais SHR treinados e não treinados foi consideravelmente menor em comparação aos respectivos controles Wistar ($p < 0,01$). A ativação neuronal do MnPO, do MPO, do PVN e do SON se mostrou fortemente associada com o trabalho desempenhado pelos animais durante o exercício progressivo (Wistar: MnPO, $r = 0,94$; MPO, $r = 0,96$; PVN, $r = 0,92$; SON, $r = 0,77$; $p < 0,01$; SHR: MnPO, $r = 0,92$; MPO, $r = 0,95$; PVN, $r = 0,93$; SON, $r = 0,91$; $p < 0,01$). **Conclusões:** os dados indicam que o

treinamento físico potencializa a atividade neuronal no MnPO, MPO e PVN de ratos Wistar e SHR submetidos ao exercício progressivo até a fadiga, a qual está relacionada com a melhora do desempenho físico. Ademais, o treinamento físico aumenta a atividade de neurônios vasopressinérgicos e ocitocinérgicos no PVN de animais normotensos e hipertensos, sendo que tal recrutamento neuronal se mostra associado com a melhora do desempenho físico. Todavia, essas respostas hipotalâmicas são atenuadas nos ratos SHR, indicando efeito inibitório da hipertensão arterial sobre a plasticidade neuronal induzida pelo exercício físico.

Palavras chave: exercício físico, balanço térmico, ativação neuronal, vasopressina, ocitocina, hipotálamo, hipertensão arterial.

ABSTRACT

Aim: To assess the influence of physical training on neuronal activation and on hypothalamic expression of vasopressin and oxytocin in SHR rats after graded running until fatigue, and whether such interference is followed by modifications on heat balance and exercise performance. **Material and methods:** Wistar non-hypertensive (systolic pressure $104 \pm 2,7$ mmHg) and SHR (systolic pressure $170 \pm 2,6$ mmHg) rats, aged 3-4 weeks were divided into: (1) trained Wistar group; (2) untrained Wistar group; (3) Naïf Wistar group; (4) trained SHR group; (5) untrained SHR group; (6) Naïf SHR group. The physical training protocol consisted of running during 8 weeks, 5 days a week. The exercise intensity and duration were gradually increased until the animals reached the velocity of 25 m/min during 60 minutes. After the physical training period, both trained and untrained Wistar and SHR animals were submitted to a session of graded exercise until fatigue (starting at 10 m/min, 1 m/min increment every 3 min until fatigue, 5% inclination of the treadmill). While the animals performed such graded exercise protocol, body and tail temperatures, as well as total time of exercise until fatigue were registered. Workload, body heating rate, heat storage rate and body temperature threshold for tail vasodilation were determined from the data obtained. Ninety minutes after finishing the graded exercise session, the animal's brains were removed and prepared for immunohistochemistry analysis. Fos immunomarcation was carried out in the following hypothalamic areas: median preoptic nucleus (MnPO), medial preoptic nucleus (MPO), paraventricular nucleus of the hypothalamus (PVN) and supraoptic nucleus (SON). **Results:** as expected, trained non-hypertensive and hypertensive animals had increased time of exercise until fatigue in comparison with the corresponding untrained rats (Wistar: 73.2 ± 3.5 min, trained vs 39.2 ± 2.1 min, untrained; SHR: 41.3 ± 2.0 min, trained vs 25.7 ± 0.6 min, untrained, $p < 0.01$), as well as higher workload performed ($p < 0.01$). SHR trained and

untrained rats showed enhanced body temperature than trained and untrained Wistar rats from 12 and 6 minutes of exercise, respectively. In regard to the tail, SHR animals demonstrated similar temperature to Wistar animals. Body temperature threshold for tail vasodilation was also equal between SHR and Wistar animals. Both trained and untrained SHR rats showed heat imbalance characterized by an increase of 300% and 266%, respectively, in body heating rate, and by an increase of 304% and 216%, respectively, in heat storage rate in comparison with the corresponding Wistar rats. Physical training enhanced c-Fos immunomarcation in the MnPO, the MPO and the PVN of Wistar and SHR rats compared with untrained animals, being this response reduced in SHR rats ($p < 0.01$). Nevertheless, physical training did not affect c-fos expression in the SON of SHR and Wistar rats. Vasopressin and oxytocin immunomarcation within the PVN, co-localized or not with c-fos, were higher in trained than untrained animals ($p < 0.01$), being the response lower in SHR rats ($p < 0.01$). Physical training did not alter the density of vasopressinergic neither oxytocinergic neurons within the SON ($p < 0.01$). However, the expression of vasopressin and oxytocin in the SON of trained and untrained SHR rats was significantly lower in comparison with its corresponding Wistar controls ($p < 0.01$). Neuronal activation of the MnPO, the MPO, the PVN and the SON was associated with the workload performed by the animals during graded running until fatigue (Wistar: MnPO, $r = 0,94$; MPO, $r = 0,96$; PVN, $r = 0,92$; SON, $r = 0,77$; $p < 0,01$; SHR: MnPO, $r = 0,92$; MPO, $r = 0,95$; PVN, $r = 0,93$; SON, $r = 0,91$; $p < 0,01$). **Conclusions:** the data indicate that physical training potentiates neuronal activity within the MnPO, the MPO and the PVN of Wistar and SHR rats submitted to grade exercise until fatigue, which is related with improved exercise performance. Moreover, physical training increases the activity of vasopressinergic and oxytocinergic neurons in the PVN of non-hypertensive and hypertensive animals, being such neural recruitment associated with the enhanced exercise performance.

Nevertheless, such hypothalamic responses are attenuated in SHR rats indicating an inhibitory effect of arterial hypertension on neuronal plasticity induced by exercise.

Keywords: physical exercise, heat balance, neuronal activation, vasopressina, oxytocin, hypothalamus, arterial hypertension.

I. INTRODUÇÃO:

CENTROS NERVOSOS REGULADORES DA TEMPERATURA CORPORAL INTERNA

Nos mamíferos, a temperatura corporal interna é mantida dentro de uma faixa estreita de variação ($\sim 37^{\circ}\text{C}$) em decorrência da regulação constante e integrada das taxas de produção e dissipação de calor (Webb, 1995). Tal temperatura é regulada por múltiplos efetores autonômicos e comportamentais. Os efetores autonômicos incluem a termogênese, induzida ou não pelo tremor, o controle do tônus vasomotor cutâneo, assim como a sudorese nos humanos e a salivação nos roedores (Romanovsky, 2007, Webb, 1995). Por sua vez, os mecanismos comportamentais incluem a construção de ninhos, as alterações da atividade locomotora e da ingestão de alimentos, os ajustes posturais, a busca por um ambiente com temperatura adequada e a utilização de vestimentas, dentre outros fatores (Romanovsky, 2007).

As áreas do sistema nervoso central que são ativadas por flutuações da temperatura corporal interna e que medeiam as respostas fisiológicas a essas flutuações estão localizadas principalmente no hipotálamo (Ishiwata et al., 2002; Nagashima et al., 2006; Romanovsky, 2007). A complexa via de controle da temperatura corporal interna sugere a interação entre vários núcleos do sistema nervoso central e diversos neurotransmissores. A área pré-óptica tem sido apontada como sítio primário da integração de sinais térmicos originados de diferentes partes do corpo (Ishiwata et al., 2002; Nagashima et al., 2006; Romanovsky, 2007). Nos ratos, as vias neurais para a salivação, o tônus vasomotor, o tremor, a atividade metabólica do tecido adiposo marrom e o comportamento já foram identificadas e caracterizadas, sendo cada resposta efetora uma via distinta, controlada de maneira

independente (Kazuyuki et al., 1998; Nagashima et al., 2006; Romanovsky, 2007) (Figura 1). Cada alça termofetora atua através de um mecanismo de retroalimentação, ativando-se via estímulos provenientes de termosensores localizados internamente, inclusive no cérebro e na superfície da pele, os quais respondem a variações da temperatura corporal interna e da pele, respectivamente. Assim, as respostas termorregulatórias parecem ser ativadas por estímulos de limiares diferentes, provenientes de várias áreas, incluindo alguns grupos neuronais do tronco encefálico (formação reticular do mesencéfalo, ponte e bulbo) e da medula espinal (Kazuyuki et al., 1998; Nagashima et al., 2006; Romanovsky, 2007).

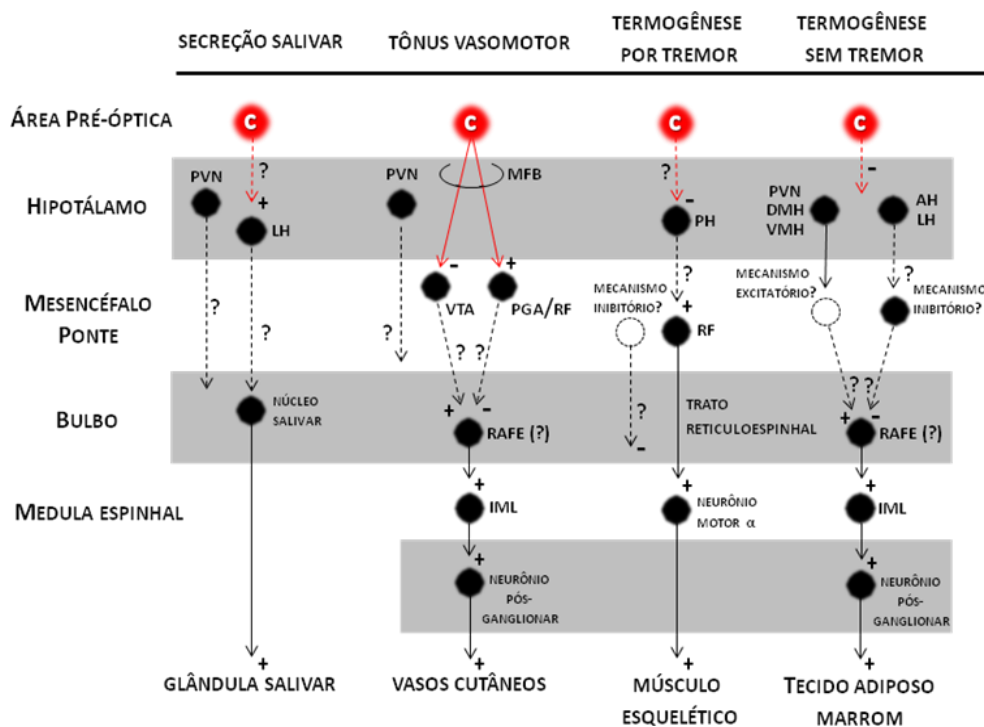


FIGURA 1. Esquema ilustrando as vias termorregulatórias efetoras da área pré-óptica para cada resposta efetora termorregulatória. Linhas contínuas ou tracejadas indicam conexões comprovadas e hipotéticas, respectivamente. A rede neuronal para a termorregulação comportamental é pouco conhecida. Abreviações: (C) neurônios sensíveis ao calor, PVN (núcleo paraventricular do hipotálamo), MFB (feixe prosencefálico medial), VTA (área tegmental ventral), PAG (substância periaquedutal cinzenta), IML (coluna intermediolateral), HL (hipotálamo lateral), RF (formação reticular), AH (hipotálamo anterior), PH (hipotálamo posterior), VMH (hipotálamo ventromedial), DMH (hipotálamo dorsomedial). Adaptado de Nagashima et al., 2006; Romanovsky, 2007.

A área pré-óptica contém grupos independentes de neurônios sensíveis à temperatura, os quais regulam individualmente os mecanismos efetores (McAllen et al., 2010, Romanovsky, 2009). Em situação de elevação da temperatura corporal interna, a subregião da área pré-óptica que recebe sinais sensíveis ao calor é predominantemente o núcleo pré-óptico mediano (MnPO). Os neurônios glutamatérgicos desse centro, por sua vez, enviam eferências para neurônios GABAérgicos sensíveis ao calor no núcleo pré-óptico medial (MPO) (Morrison & Nakamura, 2011; Nakamura & Morrison, 2010; Romanovsky, 2009). Tais neurônios do MPO suprimem tonicamente as repostas de conservação de calor, inclusive a vasoconstrição da pele, através de projeções inibitórias para outros núcleos hipotalâmicos, dentre eles o núcleo paraventricular do hipotálamo (PVN) (Osaka, 2011; Tanaka et al., 2011). Este núcleo foi descrito como um dos participantes do controle da temperatura corporal interna (Nagashima et al., 2006; Romanovsky, 2007) e contribui para a inibição do fluxo simpático para a pele via neurônios controladores da vasomotricidade cutânea, cuja atividade também é modulada por inibição GABAérgica (Cerri et al., 2010; Cham et al., 2006; Leite et al., 2012).

É importante destacar que o MnPO também apresenta conexões neurais extensivas com células neuroendócrinas do PVN e do núcleo supraóptico (SON) (McKinley et al., 2015) para regular a secreção de vasopressina (McKinley et al., 2015; Simpson & Routtenberg 1973). De fato, o aumento da temperatura corporal interna, assim como da temperatura hipotalâmica, favorece a secreção de vasopressina por esses núcleos (Forsling et al., 1975; Sladek & Jonhson, 2013).

Ademais, vários estudos demonstraram que a vasopressina desempenha papel importante na termorregulação e febre (Naylor et al., 1986; Steiner et al., 1998; Yang et al., 2009). A infusão central e intravenosa de vasopressina em ratos febris desencadeia resposta antipirética, associada a diminuição da produção de calor, aumento da dissipação de calor e

subsequente diminuição da temperatura corporal interna. De maneira semelhante, a infusão intravenosa de vasopressina também reduz a temperatura corporal interna, enquanto que o tratamento com antagonista do receptor V1 para a vasopressina acarreta em aumento da mesma (Steiner et al., 1998; Yang et al., 2009).

Evidências sugerem que o sistema ocitocinérgico do PVN e do SON também desempenha função importante na termorregulação (Kasahara et al., 2013; Lin et al., 1983). A ocitocina é preferencialmente liberada em resposta ao estresse, inclusive físico (Zhou et al., 2016). São várias as evidências de que a ocitocina regula a atividade do tecido adiposo marrom atuando através do sistema hipotalâmico em situações de exposição ao frio. Nessa condição, a injeção central de ocitocina produz calor através da estimulação da termogênese sem tremor (Kasahara et al., 2007; 2013, 2015; Lin et al., 1983). No entanto, ainda é incerto qual seria o envolvimento da ocitocina, atuando centralmente, no controle da temperatura corporal interna em situação de aumento da produção de calor.

É importante recordar que além da liberação de vasopressina e ocitocina na corrente sanguínea pelos terminais axônicos da hipófise posterior, em resposta a um potencial de ação gerado no corpo neuronal hipotalâmico, esses hormônios também são liberados dentro do próprio hipotálamo oriundos de dendritos e corpos de neurônios magnocelulares do PVN e do SON (Ohbuchi et al., 2015; Iovino et al., 2016). Dessa forma, esses neuropeptídeos podem exercer papel importante no controle de respostas autonômicas e neuroendócrinas de outros núcleos hipotalâmicos (Ohbuchi et al., 2015; Iovino et al., 2016). A ativação dos neurônios magnocelulares do PVN e do SON desencadeia mobilização de cálcio intracelular e, conseqüente, despolarização neuronal, aumentando a disponibilidade intracelular de vasopressina e ocitocina por período de horas (Ludwig et al., 2002).

VARIAÇÃO DA TEMPERATURA CORPORAL INTERNA DURANTE O EXERCÍCIO FÍSICO

A atividade física promove o aumento da temperatura corporal interna proporcionalmente à intensidade e duração do exercício (Harri et al., 1982). Essa alteração ocorre em decorrência do metabolismo corporal aumentado necessário para suprir as demandas energéticas dos músculos em exercício (Coyle, 2000; Galbo, 1985). A contração muscular necessária para realizar os movimentos converte cerca de 20-25% da energia química presente nas moléculas de ATP em trabalho mecânico, enquanto os 75-80% restantes são convertidos em calor (Brooks et al., 1984). Portanto, o aumento do metabolismo corporal induzido pelo exercício físico leva a uma maior produção de calor.

Durante os primeiros minutos do exercício aeróbico, denominada fase dinâmica de balanço térmico, o aumento intenso da temperatura corporal interna é consequência do descompasso entre a inerente elevação do calor metabolicamente produzido e a dissipação do mesmo (Webb, 1995). A figura 2 ilustra tal dinâmica em ratos, na qual a taxa de produção de calor (estimada a partir do consumo de oxigênio) aumenta exponencialmente, enquanto a taxa de dissipação de calor (estimada a partir da temperatura da pele da cauda) diminui nos minutos iniciais do exercício submáximo até a fadiga. A vasoconstrição cutânea mediada pela ativação do sistema nervoso simpático dificulta a perda de calor durante este estágio do esforço (Johnson, 2010; Thomas et al., 1999).

A fase estável de balanço térmico do exercício aeróbico (Figura 2) inicia-se a partir do momento no qual o tônus simpático periférico cutâneo é superado, isto é, quando o limiar térmico para a vasodilatação cutânea é atingido. Conseqüentemente, a perda de calor por dissipação é facilitada pela vasodilatação da pele, aproximando-se da taxa de produção de calor e provocando aumento menos acentuado da temperatura corporal interna até a

interrupção da atividade física. O desbalanço térmico é descrito como fator importante para a redução do desempenho físico (Nybo, 2008). Evidências apontam que há relação inversa entre as taxas de acúmulo de calor e de aquecimento corporal e o tempo de exercício até a fadiga (Lacerda et al., 2005; Leite et al., 2010). Sendo assim, em casos nos quais as taxas de aquecimento corporal e de acúmulo de calor aproximam-se de um limite crítico, o cérebro e a homeostasia são protegidos pela instalação da fadiga voluntária (Lacerda et al., 2005; Leite et al., 2006; Nielsen & Nybo, 2003).

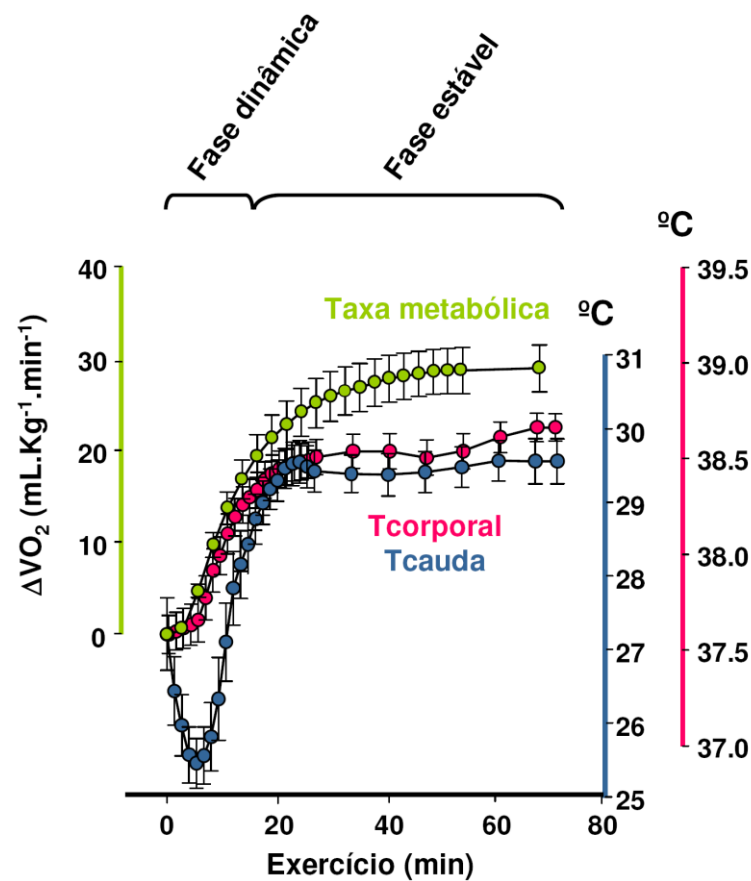


Figura 2. Gráfico ilustrativo da dinâmica entre a produção e a dissipação de calor durante as diferentes fases do exercício. Adaptado de Leite et al., 2013.

FADIGA E EXERCÍCIO FÍSICO

A fadiga induzida pelo exercício físico é um fenômeno multifatorial que envolve interação complexa entre fatores fisiológicos e psicológicos. Ela pode ser definida como inabilidade em manter força ou potência requerida, ou ainda como dificuldade em manter a taxa de trabalho (Fernstrom & Fernstrom, 2006; Foley & Fleshner, 2008; Meeusen et al., 2007; Nielsen & Nybo, 2003). O cérebro é especialmente vulnerável a hipertermia, indutora de apoptose neuronal, e a fadiga central constitui mecanismo protetor da integridade do sistema nervoso central (Nielsen & Nybo, 2003). Assim, a fadiga previne ameaças à homeostase através da redução voluntária da intensidade da atividade física ou a cessação da mesma (Gandevia, 2001; Kay & Marino, 2000; Noakes, 1998). Os fatores que desencadeiam a fadiga têm origem periférica e/ou central, sendo que a última é consequência de falha do sistema nervoso central em proporcionar motivação adequada para manutenção do exercício (Gandevia, 2001; Kay & Marino, 2000; Noakes, 1998). Os mecanismos fisiológicos propostos como precipitadores da fadiga incluem perturbações metabólicas, respiratórias, cardiovasculares e do sistema nervoso central, muitas vezes associados à temperatura corporal interna elevada (Fernstrom & Fernstrom, 2006; Foley & Fleshner, 2008; Meeusen et al., 2007; Nielsen & Nybo, 2003).

O desbalanço térmico é descrito como fator importante para a redução do desempenho físico (Nybo, 2008). Evidências apontam que há uma relação inversa entre o valor da temperatura corporal interna anterior ao início da atividade física e o tempo total de exercício, assim como forte correlação negativa entre as taxas de acúmulo de calor e de aquecimento corporal e o tempo de exercício até a fadiga (Fuller et al., 1998; González-Alonso et al., 1999; Walters et al., 2000). Embora alguns autores proponham a existência de valores absolutos críticos de temperatura corporal interna ou de calor acumulado que levariam a interrupção da

atividade física (Fuller et al., 1998; Walters et al., 2000), variáveis dinâmicas como as taxas de acúmulo de calor e de aquecimento corporal parecem ser predisponentes importantes da antecipação da fadiga (Cheuvront et al., 2010; Hasegawa et al., 2008; Lacerda et al., 2005, 2006; Leite et al., 2006, 2010, Rodrigues et al., 2003). Sendo assim, em casos nos quais a temperatura corporal interna eleva-se consideravelmente e as taxas de aquecimento corporal e de acúmulo de calor atingem um limite crítico, o cérebro e a homeostasia são protegidos pela instalação da fadiga (Gleeson, 1998; Lacerda et al., 2005; Leite et al., 2006; Nielsen & Nybo, 2003; Walters et al., 2000).

HIPERTENSÃO ARTERIAL E TERMORREGULAÇÃO DURANTE O EXERCÍCIO FÍSICO

Evidências apontam que indivíduos hipertensos são menos capazes de se adaptar aos ambientes de temperatura extrema e apresentam maior risco de complicações relacionadas ao calor (Fonseca et al., 2015; Kenny et al., 2010). Propõe-se que tais implicações devem-se ao aumento da resistência vascular, acompanhada de modificações da circulação periférica (Kellog et al., 1998, Kenney et al., 1984). Como consequência dessas modificações, a hipertensão arterial também interfere no controle da temperatura corporal interna durante o exercício aeróbico (Campos et al., 2014). Isso porque o aumento crônico da pressão arterial prejudica a redistribuição de fluxo sanguíneo para a pele, dificultando a dissipação de calor (Kellog et al., 1998; O'Leary & Wang, 1994; Wright et al., 1977). Portanto, sujeitos com hipertensão arterial possivelmente vivenciam maior sobrecarga térmica em comparação aos normotensos durante o exercício físico. Corroborando com essa proposta, foi demonstrado que ratos espontaneamente hipertensos (SHR) apresentam elevação da temperatura corporal interna ao final da atividade física, associada a maior produção e armazenamento de calor. A

combinação dessas respostas resulta em hipertemia excessiva e redução do desempenho físico (Campos et al., 2014).

Seres humanos e ratos SHR compartilham de características fisiopatológicas de hipertensão arterial sistêmica, tais como o aumento da resistência vascular periférica e da responsividade do sistema simpático-adrenal a estímulos estressantes (Folkow, 1987; Okamoto & Aoki, 1963; Trippodo & Frohlich, 1981). Assim, ratos SHR são amplamente utilizados em estudos de comorbidades cardiovasculares, uma vez que são considerados bom modelo de hipertensão arterial humana primária (Folkow, 1984; Okamoto & Aoki, 1963).

TREINAMENTO FÍSICO

O treinamento físico produz adaptações fisiológicas crônicas favoráveis ao aprimoramento da capacidade funcional. Dentre essas respostas está a melhora na eficiência do estabelecimento do equilíbrio térmico durante o exercício aeróbico em função do aprimoramento dos mecanismos de dissipação de calor através da vasodilatação da pele (Ichinose et al., 2009; Thompson et al., 2001). Evidências indicam que isso se deve a diminuição do limiar térmico para vasodilatação cutânea, o qual antecipa o fluxo sanguíneo para a pele (Johnson, 2010; Thomas et al., 1999). De fato, estudo recente demonstrou que o treinamento físico reduz o limiar de temperatura corporal interna para vasodilatação da cauda, seguido de maior ativação neuronal do PVN, do MPO e do MnPO em decorrência do exercício progressivo até a fadiga (Santiago et al., 2016). O maior recrutamento neuronal de tais núcleos nos animais treinados mostrou-se diretamente associado com o trabalho desempenhado, sugerindo um possível mecanismo central subjacente ao aumento da dissipação de calor através da vasodilatação da pele e consequente melhora do desempenho físico (Lima et al., 2014; Santiago et al., 2016).

Estudos demonstraram que o treinamento físico também induz plasticidade neuronal em áreas centrais envolvidas com o controle autônomo. No PVN, observou-se aumento na densidade de neurônios ocitocinérgicos e vasopressinérgicos após o treinamento de corrida (Cavalleri et al., 2011; Higa-Taniguchi et al., 2009; Jackson et al., 2005). Também há evidências que indicam que o treinamento físico interfere na excitabilidade de neurônios autonômicos e secretores do PVN (Jackson et al., 2005). A maior densidade desses neurônios é seguida por elevação na liberação de ocitocina e vasopressina no núcleo do trato solitário de animais treinados, tanto normotensos quanto hipertensos (Higa-Taniguchi et al., 2009; Martins et al., 2015). Essa resposta é um importante mecanismo adaptativo central relacionado ao aprimoramento dos ajustes cardiovasculares autonômicos, sendo observado bradicardia de repouso e menor resposta taquicárdica de exercício em decorrência do treinamento físico (Martins et al., 2015). De maneira semelhante, o treinamento aeróbio poderia induzir adaptações nas propriedades intrínsecas de neurônios hipotalâmicos responsáveis por regular a temperatura corporal interna, contribuindo para o aprimoramento do balanço térmico em quadro de hipertensão arterial. Tal efeito constituiria um mecanismo através do qual o aumento da ativação neuronal e da secreção de neuropeptídeos modulariam o fluxo simpático para vasos cutâneos, facilitando a dissipação de calor (Santiago et al., 2016).

II. OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

Verificar a influência do treinamento físico na ativação neuronal e na expressão de vasopressina e ocitocina hipotalâmica em ratos SHR em decorrência do exercício progressivo até a fadiga, e se estas possíveis alterações seriam acompanhadas de modificações no balanço térmico e no desempenho físico.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Verificar os efeitos do treinamento físico em ratos SHR sobre as respostas termorregulatórias: temperatura corporal interna, temperatura da cauda, taxa de aquecimento corporal, taxa de acúmulo de calor e limiar de temperatura corporal interna para vasodilatação da cauda durante o exercício progressivo até a fadiga na esteira;
- 2) Estudar a influência do treinamento físico sobre a ativação neuronal nos núcleos MPO, MnPO, SON e PVN de ratos SHR em decorrência do exercício progressivo até a fadiga na esteira;
- 3) Estudar a influência do treinamento físico sobre a expressão de vasopressina e ocitocina no SON e no PVN em ratos SHR, em decorrência do exercício progressivo até a fadiga na esteira;
- 4) Verificar se a ativação neuronal do MPO, do MnPO, do SON e do PVN em ratos SHR está relacionada com o balanço térmico e o desempenho físico;
- 5) Verificar se a expressão de vasopressina e ocitocina no SON e no PVN em ratos SHR está relacionada com o balanço térmico e o desempenho físico.

III. MATERIAIS E MÉTODOS

ANIMAIS

Foram utilizados ratos Wistar normotensos (pressão sistólica $104 \pm 2,7$ mmHg) e SHR (pressão sistólica $170 \pm 2,6$ mmHg), com idade entre 3-4 semanas, provenientes do CEBIO-UFJF e CEBIO-UFV, respectivamente. Os animais foram mantidos em ambiente com temperatura entre 22 ± 2 °C e fotoperíodo de 14 h luz/10 h escuro, tendo livre acesso à ração e água. Esses animais foram divididos em: (1) ratos Wistar submetidos ao protocolo de treinamento físico; (2) ratos Wistar não submetido ao protocolo de treinamento físico; e (3) ratos Wistar não submetido aos protocolos de treinamento físico e de exercício progressivo até a fadiga (Naïf Wistar); (4) ratos SHR submetidos ao protocolo de treinamento físico; (5) ratos SHR não submetido ao protocolo de treinamento físico; e (6) ratos SHR não submetido aos protocolos de treinamento físico e de exercício progressivo até a fadiga (Naïf SHR). As técnicas experimentais do presente estudo foram aprovadas pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Animais das Universidades Federais de Minas Gerais, Juiz de Fora e Viçosa (CETEA/UFMG/UFJF).

FAMILIARIZAÇÃO AO EXERCÍCIO FÍSICO

Na primeira semana, os animais realizaram protocolo de familiarização ao exercício físico em esteira motorizada (Etabio, Juiz de Fora, Brasil) durante 5 dias consecutivos. O protocolo consistiu em 5 minutos de exercício físico com velocidade de $10 \text{ m} \cdot \text{min}^{-1}$ e 5% de inclinação da esteira. Este procedimento foi realizado visando adaptar o animal ao local do experimento e à direção da corrida, prevenindo o estresse diante de uma nova condição

experimental. A estimulação elétrica utilizada foi estabelecida de acordo com a tolerância de cada animal, a ponto de causar um desconforto, sem causar dor, que o fizesse preferir permanecer na esteira ao invés da grade de estimulação elétrica (Santiago et al., 2016).

TREINAMENTO AERÓBIO

O protocolo de treinamento aeróbio consistiu de corrida em esteira durante 8 semanas/5 dias por semana. A intensidade e a duração do exercício foram aumentadas gradualmente até que os animais atingissem a velocidade de 25 m/min, com 5% de inclinação da esteira, durante 60 minutos. As sessões de treinamento foram realizadas entre 10:00 e 14:00 horas.

A tabela 1 apresenta as características do protocolo de treinamento aeróbio em relação à duração e intensidade (adaptado de Priviero et al., 2004). Para garantir a mesma manipulação dos grupos treinados, os animais dos grupos não treinados realizaram exercício em esteira durante o mesmo período de treinamento, com intensidade correspondente ao treinamento físico, porém com duração de apenas 2 min/dia, a qual não induz mudança de desempenho.

Tabela 1: Protocolo de treinamento durante 8 semanas.

1ª semana:

dia 1 – 10m/min (30 min); dia 2 – 11 m/min (30 min); dia 3 – 12m/min (30 min); dia 4 – 12 m/min (35 min); dia 5 - 12m/min (35 min)

2ª semana:

dia 1 – 12 m/min (35 min); dia 2 – 12 m/min (40m/min); dia 3 - 12 m/min (45 min); dia 4 – 12 m/min (45 min); dia 5 – 12 m/min (50 min)

3ª semana:

dia 1 – 12 m/min (50 min); dia 2 – 13 m/min (50 min); dia 3 – 14 m/min (50 min); dia 4 – 14 m/min (55 min); dia 5 – 14 m/min (55 min)

4ª semana:

dia 1 – 14 m/min (55 min); dia 2 – 14 m/min (55 min); dia 3 – 15 m/min (55 min); dia 4 – 15 m/min (55 min); dia 5 – 15 m/min (60 min)

5ª semana:

dia 1 – 15 m/min (60 min); dia 2 – 15 m/min (60 min); dia 3 – 16 m/min (60 min); dia 4 – 16 m/min (60 min); dia 5 – 16 m/min (60 min)

6ª semana:

dia 1 – 16 m/min (60 min); dia 2 – 16 m/min (60 min); dia 3 – 17 m/min (60 min); dia 4 – 17 m/min (60 min); dia 5 – 17 m/min (60 min)

7ª semana:

dia 1 – 17 m/min (60 min); dia 2 – 18 m/min (60 min); dia 3 – 18 m/min (60 min); dia 4 – 19 m/min (60 min); dia 5 – 20 m/min (60 min)

8ª semana:

dia 1 – 21 m/min (60 min); dia 2 – 22 m/min (60 min); dia 3 – 23 m/min (60 min); dia 4 – 24 m/min (60 min); dia 5 – 25 m/min (60 min)

IMPLANTE DO SENSOR DE TEMPERATURA CORPORAL INTERNA

Após o período de treinamento físico, sob efeito anestésico da associação de cetamina (90 mg/Kg peso corporal, via intraperitoneal) e xilazina (10 mg/Kg peso corporal, via intraperitoneal), foi implantado o sensor G2 E-Mitter (Mini-Mitter, Sun River, OR, USA) na cavidade peritoneal dos animais para registro da temperatura corporal interna. Após assepsia e tricotomia da região abdominal, o sensor foi inserido na cavidade por meio de incisão de 2 cm na linha alba, e fixado na musculatura da parede abdominal utilizando sutura simples. O peritônio e a pele da região foram adequadamente suturados após o implante.

Após a cirurgia, os animais receberam duas doses de antibiótico (Pentabiótico Veterinário para Animais de Pequeno Porte® - 192 UI/Kg de penicilinas e 0,08 mg/Kg de Estreptomicina e Diidroestreptomicina) intervaladas em 5 dias, além de analgésico/anti-inflamatório subcutâneo (Banamine® -Flunixinina meglumina - 1,0 mg/Kg de peso corporal) a cada 12 horas, durante 36 horas.

Aos animais foi permitido um período de recuperação do procedimento cirúrgico de 2 dias.

REGISTRO DA TEMPERATURA AMBIENTE, DA TEMPERATURA CORPORAL INTERNA E DA TEMPERATURA DA CAUDA

A temperatura corporal interna foi registrada por telemetria utilizando o sensor de temperatura intraperitoneal. Para determinação da temperatura da cauda, um termistor de cauda (THR-140; Instrutherm, São Paulo, Brasil) foi fixado sobre a pele com esparadrapo cerca de 10 mm de distância da base da cauda, o qual foi conectado ao leitor digital (THR-140, Printing thermometer, Instrutherm, São Paulo, Brasil). A temperatura ambiente no

interior da esteira foi registrada por meio de termômetro digital fixado dentro do local (Minipa, ET-1400).

EXERCÍCIO PROGRESSIVO ATÉ A FADIGA

Após as 8 semanas de treinamento físico e os 2 dias de recuperação do procedimento cirúrgico, os animais treinados e não treinados, tanto SHR quanto Wistar, foram submetidos à sessão de exercício progressivo até a fadiga para avaliação dos parâmetros termorregulatórios. Inicialmente, o animal foi transportado para a esteira onde permaneceu em repouso até estabilização das temperaturas corporal interna e da cauda por no mínimo 20 minutos. O protocolo de esforço progressivo até a fadiga iniciou com velocidade de $10 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$, acrescida de $1 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$ a cada 3 minutos, com inclinação da esteira de 5%. A fadiga foi definida como o momento no qual o animal não mais conseguiu manter o ritmo da esteira por mais de 10 segundos (Lacerda et al., 2005; Leite et al., 2010). As variáveis termorregulatórias foram registradas continuamente ao longo de todo o experimento, isto é, durante o período de repouso e durante o exercício físico até a fadiga. Os experimentos foram realizados entre 10:00 e 14:00 horas e a temperatura ambiente foi mantida entre $22 \pm 2^\circ \text{C}$.

As temperaturas corporal interna e da cauda foram utilizadas para determinar o limiar térmico para vasodilatação cutânea, isto é, a temperatura corporal interna que corresponde ao momento no qual a temperatura da cauda começa a se elevar (vasodilatação) (Leite et al., 2012).

CÁLCULOS

A partir dos dados colhidos foram determinados:

Tempo de exercício até a fadiga (min).

Trabalho (Kgm) = $m \cdot TTE \cdot v \cdot \text{sen}\alpha$, sendo m = massa corporal em kg; TTE = tempo total de exercício (min); v = velocidade da esteira ($\text{m} \cdot \text{min}^{-1}$); $\text{sen}\alpha$ = inclinação da esteira.

Taxa de aquecimento corporal ($^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$) = $\Delta T_c / (\text{tempo de exercício})$, sendo ΔT_c = variação da temperatura corporal interna ($T_f - T_i$); $T_f = T_c$ no ponto de fadiga; $T_i = T_c$ inicial medida antes do exercício.

Taxa de acúmulo de calor (cal) = $(\Delta T_c) \cdot m \cdot c / (\text{tempo de exercício})$, sendo m = massa corporal em gramas; c = calor específico dos tecidos do animal ($0.826 \text{ cal} \cdot \text{g}^{-1} \cdot ^{\circ}\text{C}^{-1}$).

IMUNOHISTOQUÍMICA

Noventa minutos após o final da sessão de exercício progressivo até a fadiga, os animais foram perfundidos, através da aorta ascendente, com 50 mL de tampão fosfato salina 0,01M (PBS 0,01M: tampão fosfato, pH 7,4; NaCl 145 mM e KCl 2,15mM) contendo heparina (5 UI/mL) a temperatura ambiente. Em seguida, 300 mL de solução de paraformaldeído 4% em tampão fosfato (PB) 0,1M (PFA 4%) a 4°C foram também infundidos. Após a fixação por perfusão, os cérebros foram submetidos à fixação por imersão, em PFA 4%, por 2 horas e crioprotetidos em sacarose 30% em PB 0,1M a 4°C. Os cérebros fixados foram congelados em isopentano (C_5H_{12}) a -40°C durante 1 min e armazenados a -80 °C. Posteriormente, secções coronais de 40 μm da extensão rostro-caudal da área pré-óptica e do PVN foram obtidas em criostato e armazenadas em solução crioprotetora a -20°C.

As marcações imunohistoquímicas para c-Fos, marcador indireto da atividade neuronal, vasopressina e ocitocina foram realizadas pelo método de *free-floating*. Todos os passos foram realizados a 22°C, exceto a incubação com o anticorpo primário realizada a 4°C. Após remoção da solução crioprotetora, as secções foram lavadas em glicina 0,1 M e incubadas em triton X-100 (TX-100) 0,3 % por 30 min, H₂O₂ por 1 h e albumina bovina (BSA 1%) por 1 h. Posteriormente, os cortes foram incubados com anticorpo primário em PBS contendo TX-100 0,3% e BSA 1% (solução também utilizada para diluição do anticorpo secundário) por 40 h, com anticorpo secundário biotilado anti-IgG de coelho ou camundongo produzido em cavalo (BA-2001, Vector), 1:600 por 2 h, e com o complexo avidina DH-peroxidase biotilada (KIT ABC Elite, Vector laboratories) a 1:400 (reagentes A e B) por 1 h. Os anticorpos primários utilizados no procedimento foram: anti-c-Fos, produzido em coelho (Ab-5, Calbiochem), a 1:10000, anti-vasopressina, produzido em camundongo (PS4-ATCCRL 1799 NIH, Bethesda, USA), a 1:5000, e anti-ocitocina, produzido em camundongo (ATCCRL NIH, Bethesda, USA), a 1:5000. A coloração dos cortes foi obtida através de solução contendo 3,3' diaminobenzidina-HCl (DAB 0,2 mg/mL; Sigma), sulfato de níquel (25 mg/mL) e H₂O₂ (1 µL/mL de uma solução de H₂O₂ a 30%) em tampão acetato 0,175 M (pH 7,5) por 18 min. A omissão dos anticorpos primários resultou na completa ausência de marcação.

Os cortes foram montados em lâminas gelatinizadas e fotografados em campo claro de iluminação com objetiva de 20X. Realizou-se a contagem de todos os neurônios imunorreativos à proteína Fos, à vasopressina e à ocitocina na área fotografada, em um total de três secções por animal para o PVN, o MPO e o SON, e de uma secção por animal para o MnPO.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados estão apresentados como média \pm E.P.M. Para a análise estatística foi utilizada a análise de variância (ANOVA two-way), seguido do teste de Newman-Keuls. As correlações foram verificadas por meio do coeficiente de correlação de Pearson. O nível de significância foi estabelecido em 5%.

IV. RESULTADOS

Efeito do treinamento físico sobre o trabalho realizado durante o exercício (gráfico 1).

Verificou-se aumento de 168% e 94% do trabalho realizado por parte dos animais Wistar e SHR treinados, respectivamente, quando comparados com os animais não treinados correspondentes. O trabalho realizado pelos animais SHR treinados e não treinados foi 185% e 107% menor, respectivamente, em comparação com os animais normotensos correspondentes.

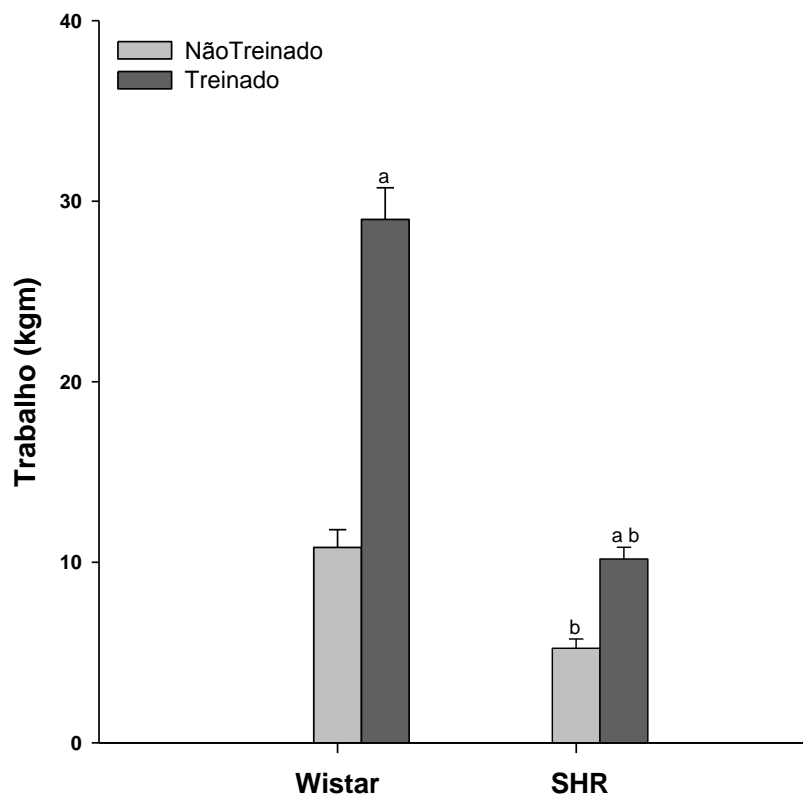


Gráfico 1. Efeito do treinamento físico sobre o trabalho realizado durante o exercício progressivo até a fadiga em ratos Wistar e SHR (n=6/grupo). Dados expressos como média \pm EPM. ^a $p < 0,01$ treinado vs. não treinado correspondente a mesma linhagem, ^b $p < 0,01$ SHR vs. Wistar correspondente ao mesmo estado de treinamento físico.

Efeito do treinamento físico sobre o tempo até a fadiga e o balanço térmico durante o exercício (gráfico 2).

Como esperado, os animais treinados apresentaram tempo de exercício até a fadiga maior em comparação aos animais não treinados correspondentes (Wistar: $73,2 \pm 3,5$ min, treinados vs $39,2 \pm 2,1$ min, não treinados; SHR: $41,3 \pm 2,0$ min, treinados vs $25,7 \pm 0,6$ min, não treinados, $p < 0,01$). O tempo de exercício realizado pelos animais SHR treinados e não treinados foi 77% e 53% menor, respectivamente, em comparação com os animais Wistar correspondentes.

O exercício progressivo induziu aumento rápido da temperatura corporal interna nos animais normotensos e SHR, tanto treinados quanto não treinados. Dentre a mesma linhagem, a variação da temperatura corporal interna foi inferior somente nos animais Wistar treinados entre os minutos 10 e 14 em comparação aos animais não treinados. Os animais SHR não treinados e treinados apresentaram maior temperatura corporal interna em relação aos animais Wistar correspondentes a partir de 12 e 6 minutos de exercício físico até a fadiga, respectivamente.

Em relação à temperatura da cauda, o exercício físico promoveu inicialmente vasoconstrição, visualizada através da queda da temperatura da cauda, que atingiu o nadir aos 8 e 9 minutos de exercício para os animais não treinados ($-3,11 \pm 0,60$ °C) e treinados ($-2,35 \pm 0,27$ °C) Wistar, respectivamente, e aos 6 e 7 minutos para os animais não treinados ($-2,25 \pm 0,20$ °C) e treinados ($-2,22 \pm 0,28$ °C) SHR, respectivamente. Esta vasoconstrição foi seguida de elevação da temperatura da cauda, indicando que o mecanismo de perda de calor através da vasodilatação da cauda foi ativado. Os animais SHR não treinados apresentaram aumento da temperatura da cauda em relação aos animais Wistar correspondentes entre os minutos 8 e 11 e a partir de 21 minutos de exercício físico até a fadiga. Já os animais SHR treinados

apresentaram aumento da temperatura da cauda em relação aos animais Wistar correspondentes somente entre os minutos 24 e 28 de exercício progressivo.

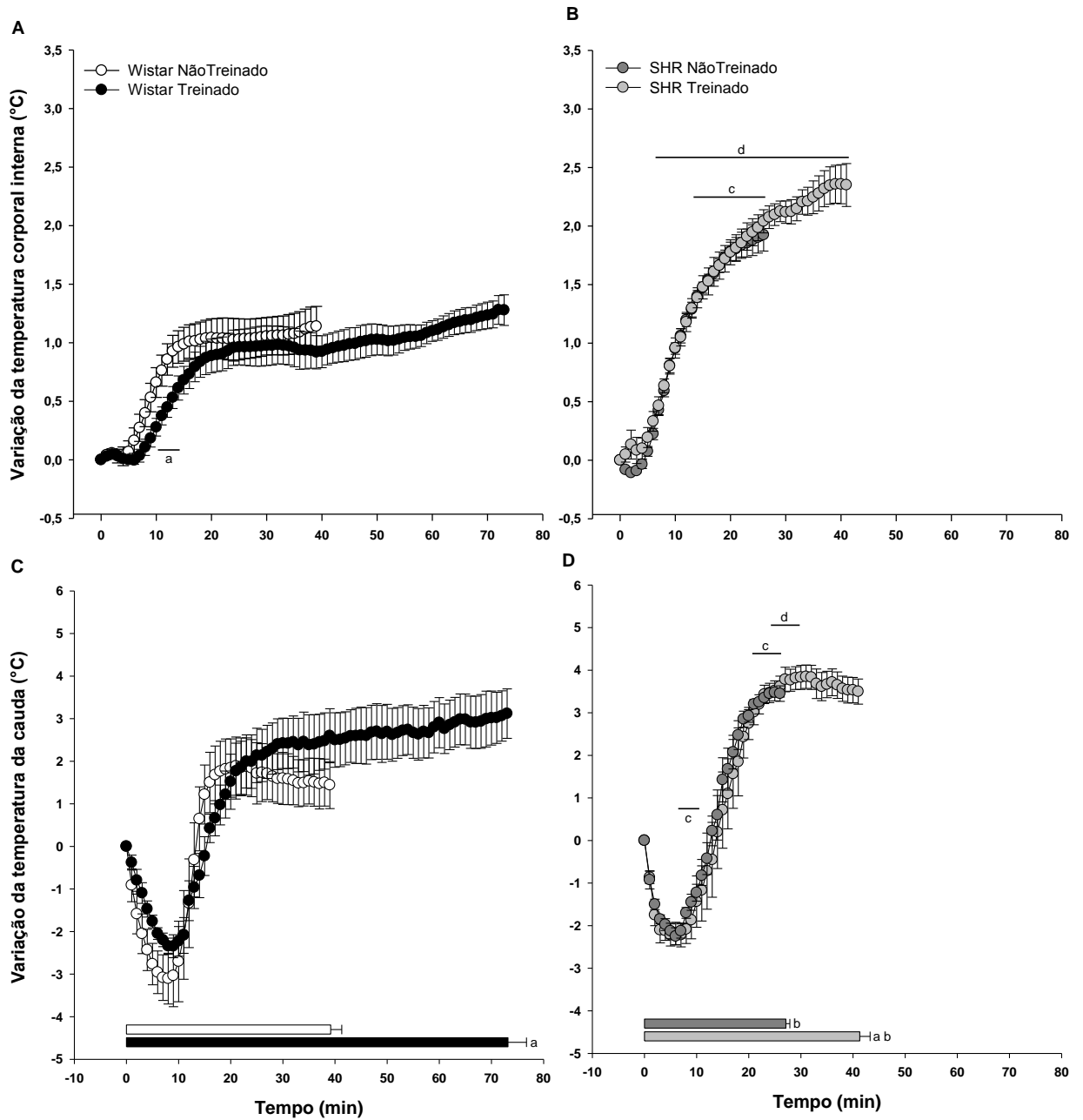


Gráfico 2. Efeito do treinamento físico sobre a variação da temperatura corporal interna e da cauda durante o exercício progressivo até a fadiga em ratos Wistar (A e C) e SHR (B e D) (n=6/grupo). As barras horizontais dos painéis C e D indicam o tempo de exercício até a fadiga ($p < 0,01$). Dados expressos como média \pm EPM. ^a $p < 0,05$ treinado vs. não treinado correspondente a mesma linhagem, ^b $p < 0,05$ SHR vs. Wistar correspondente ao mesmo estado de treinamento físico, ^c $p < 0,05$ SHR não treinado vs. Wistar não treinado, ^d $p < 0,05$ SHR treinado vs. Wistar treinado.

Efeito do treinamento físico sobre a taxa de aquecimento corporal e a taxa de acúmulo de calor (gráfico 3).

Os resultados mostraram que o treinamento físico induz menor taxa de aquecimento corporal (Wistar: $0,02 \pm 0,00 \text{ } ^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ treinados vs $0,03 \pm 0,00 \text{ } ^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, não treinados; SHR: $0,06 \pm 0,01 \text{ } ^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ treinados vs $0,08 \pm 0,01 \text{ } ^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, não treinados, $p < 0,05$). Os animais SHR treinados e não treinados apresentaram 300% e 266% maiores taxas de aquecimento corporal, respectivamente, em comparação com os ratos Wistar correspondentes.

Os animais treinados apresentaram taxa de acúmulo de calor menor em comparação aos animais não treinados correspondentes (Wistar: $4,34 \pm 0,83$ cal, treinados vs $7,81 \pm 1,19$ cal, não treinados; SHR: $13,21 \pm 1,30$ cal, treinados vs $16,29 \pm 1,28$ cal, não treinados, $p < 0,05$). Os ratos SHR treinados e não treinados apresentaram 304% e 216% maiores taxas de acúmulo de calor, respectivamente, em comparação com os animais normotensos correspondentes.

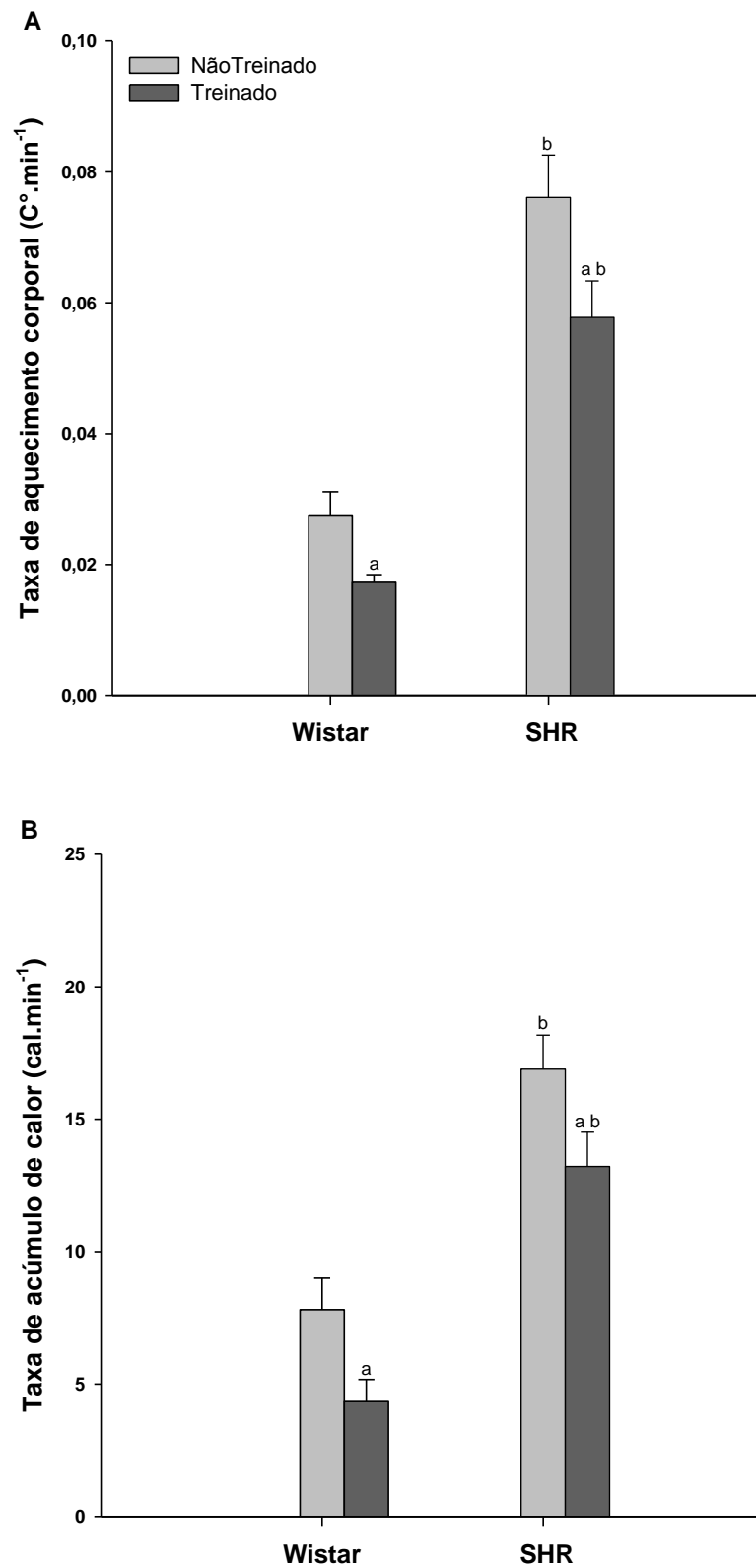


Gráfico 3. Efeito do treinamento físico sobre a taxa de aquecimento corporal (A) e a taxa de acúmulo de calor (B) durante o exercício progressivo até a fadiga em ratos Wistar e SHR (n=6/grupo). Dados expressos como média \pm EPM. ^a $p < 0,05$ treinado vs. não treinado correspondente a mesma linhagem, ^b $p < 0,05$ SHR vs. Wistar correspondente ao mesmo estado de treinamento físico.

Efeito do treinamento físico sobre o limiar de temperatura corporal interna para vasodilatação da pele (gráfico 4).

Para verificar se o treinamento físico interfere nos mecanismos de dissipação de calor através da vasodilatação da cauda durante o exercício progressivo até a fadiga, o limiar de temperatura corporal interna para vasodilatação da pele foi calculado. Constatou-se que o valor do limiar foi semelhante entre os animais hipertensos treinados e não treinados, quando comparados aos ratos normotensos correspondentes. Contudo, verificou-se que o treinamento físico foi capaz de modificar o limiar apenas nos animais normotensos, com redução no valor do limiar em $0,6\text{ }^{\circ}\text{C}$ nos ratos Wistar treinados em comparação com os não treinados ($37,8 \pm 0,2\text{ }^{\circ}\text{C}$, treinados vs $38,4 \pm 0,1\text{ }^{\circ}\text{C}$, não treinados, $p < 0,01$).

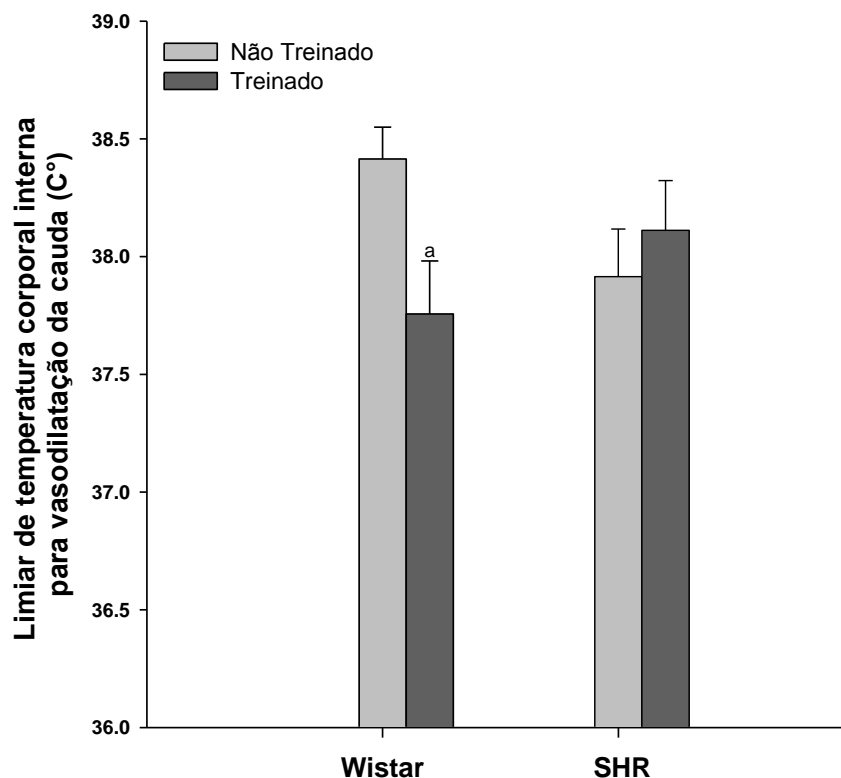


Gráfico 4. Efeito do treinamento físico sobre o limiar de temperatura corporal interna para vasodilatação da cauda durante o exercício progressivo até a fadiga em ratos Wistar e SHR (n=6/grupo). Dados expressos como média \pm EPM. ^a $p < 0,01$ treinado vs. não treinado correspondente a mesma linhagem.

Efeito do treinamento físico sobre a ativação neuronal do MnPO em decorrência do exercício (gráfico 5).

Observou-se maior ativação do MnPO nos animais não treinados em comparação ao grupo Naïf, tanto nos animais Wistar quanto SHR. Os animais treinados, também de ambas as linhagens, apresentaram aumento dos neurônios imunorreativos ao c-Fos no MnPO em comparação aos animais não treinados e Naïf correspondentes (Wistar: 83,2 ± 11,5 neurônios c-Fos-ir/secção, treinados vs 24,6 ± 2,2 neurônios c-Fos-ir/secção, não treinados vs 13,8 ± 1,3 neurônios c-Fos-ir/secção, Naïf; SHR: 53,0 ± 5,0 neurônios c-Fos-ir/secção, treinados vs 28,5 ± 2,4 neurônios c-Fos-ir/secção, não treinados vs 14,3 ± 1,1 neurônios c-Fos-ir/secção, Naïf $p < 0,05$). Os animais SHR treinados apresentaram 37% menor ativação neuronal no MnPo em comparação com os animais Wistar correspondentes. Fotomicrografias representativas da marcação simples para c-Fos no MnPO são apresentadas na figura 3.

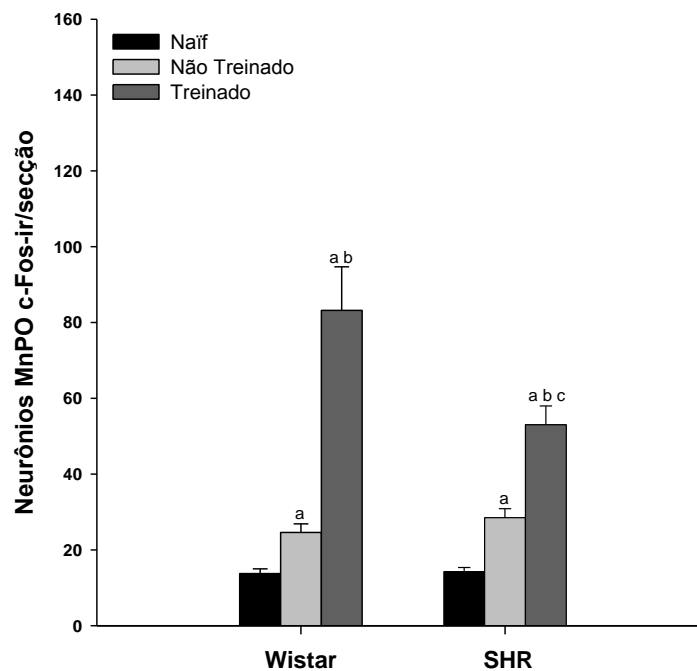


Gráfico 5. Efeito do treinamento físico sobre a ativação neuronal do MnPO em decorrência do exercício progressivo até a fadiga em ratos Wistar e SHR (n=5/grupo). Dados expressos como média ± EPM. ^a $p < 0,05$ vs. Naïf correspondente a mesma linhagem, ^b $p < 0,05$ treinado vs. não treinado correspondente a mesma linhagem, ^c $p < 0,05$ SHR vs. Wistar correspondente ao mesmo estado de treinamento físico.

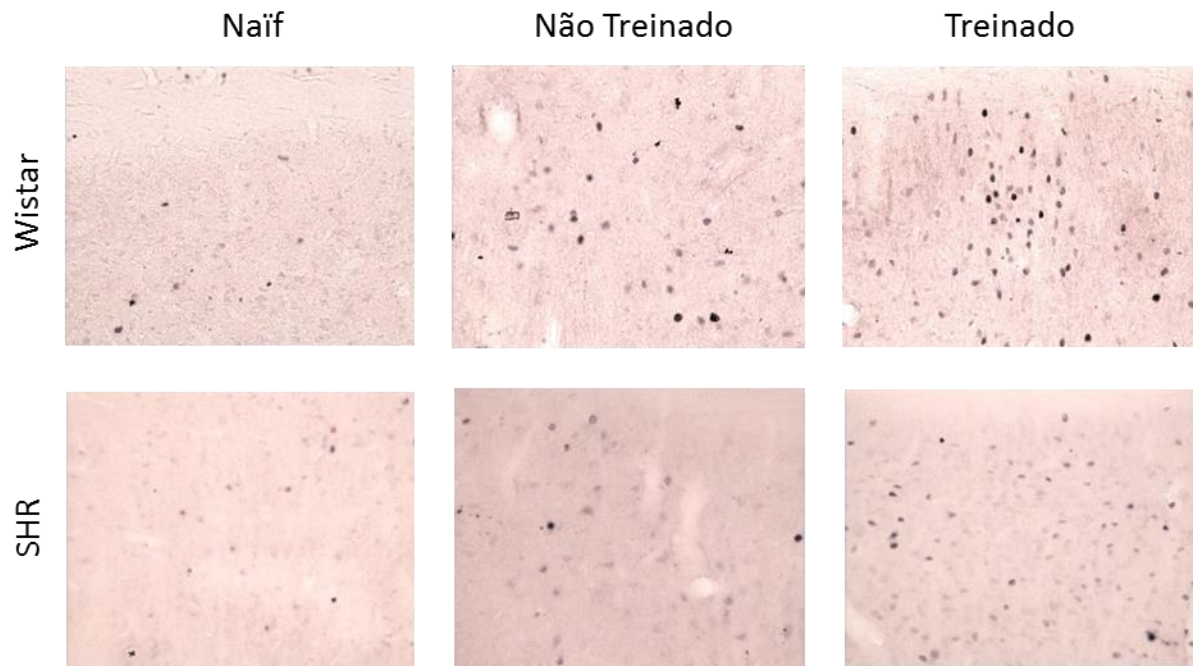
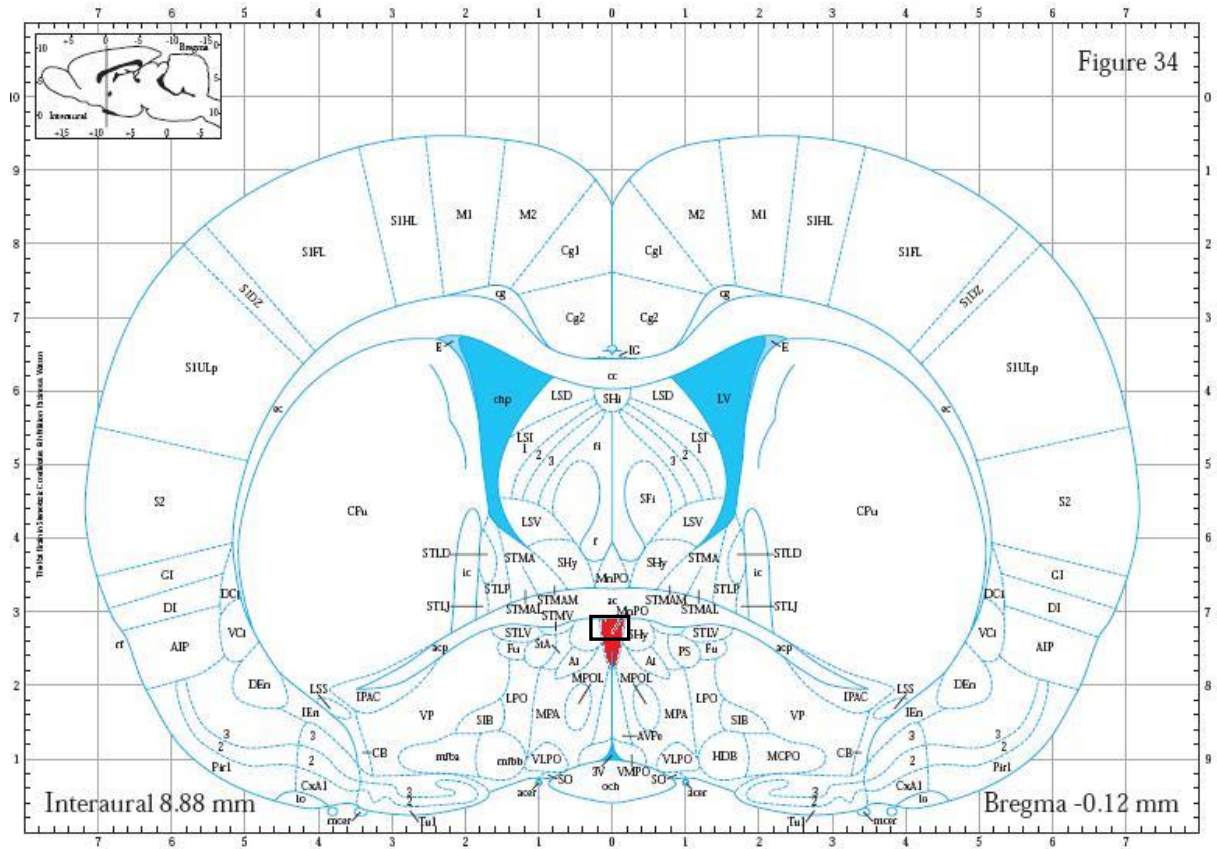


Figura 3. Fotomicrografias de seções coronais do MnPO mostrando neurônios imunorreativos à proteína Fos (marcação nuclear preta) de ratos Wistar Naïf, não treinado e treinado, e de animais SHR Naïf, não treinado e treinado. Esquema representa região analisada no MnPO (quadrado). Imagens obtidas na objetiva 20x.

Efeito do treinamento físico sobre a ativação neuronal do MPO em decorrência do exercício (gráfico 6).

Observou-se maior ativação do MPO nos animais não treinados em comparação ao grupo Naïf, tanto nos animais Wistar quanto SHR. Os animais treinados, também de ambas as linhagens, apresentaram aumento dos neurônios imunorreativos ao c-Fos no MPO em comparação aos animais não treinados e Naïf correspondentes (Wistar: 129,6 ± 8,2 neurônios c-Fos-ir/secção, treinados vs 72,3 ± 6,6 neurônios c-Fos-ir/secção, não treinados vs 14,5 ± 0,5 neurônios c-Fos-ir/secção, Naïf; SHR: 106,7 ± 6,7 neurônios c-Fos-ir/secção, treinados vs 46,7 ± 4,8 neurônios c-Fos-ir/secção, não treinados vs 13,1 ± 1,2 neurônios c-Fos-ir/secção, Naïf $p < 0,05$). Os animais SHR treinados e não treinados apresentaram ativação neuronal do MPO 18% e 35% menor, respectivamente, em comparação com os animais Wistar correspondentes. Fotomicrografias representativas da marcação simples para c-Fos no MPO são apresentadas na figura 4.

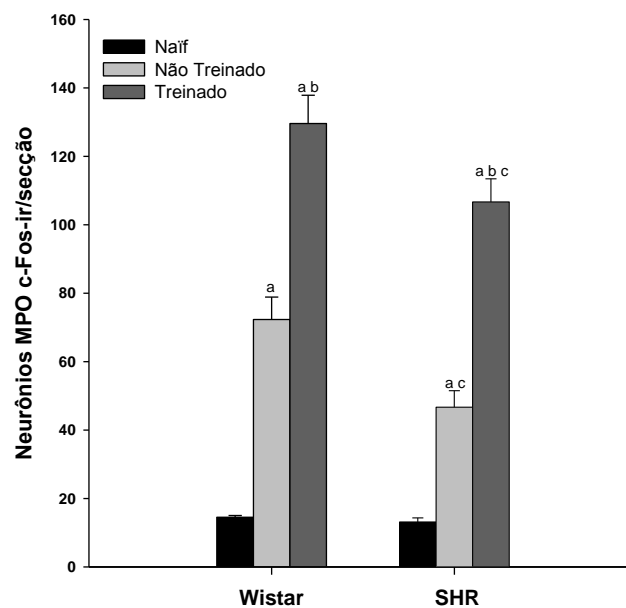


Gráfico 6. Efeito do treinamento físico sobre a ativação neuronal do MPO em decorrência do exercício progressivo até a fadiga em ratos Wistar e SHR (n=5/grupo). Dados expressos como média ± EPM. ^a $p < 0,05$ vs. Naïf correspondente a mesma linhagem, ^b $p < 0,05$ treinado vs. não treinado correspondente a mesma linhagem, ^c $p < 0,05$ SHR vs. Wistar correspondente ao mesmo estado de treinamento físico.

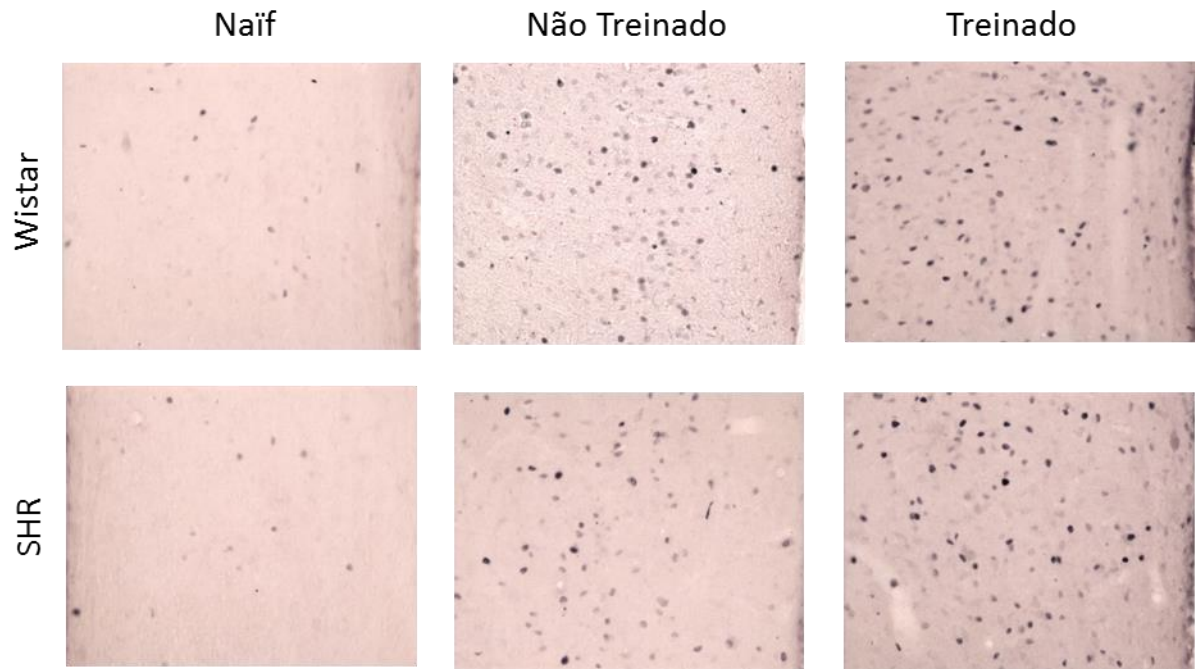
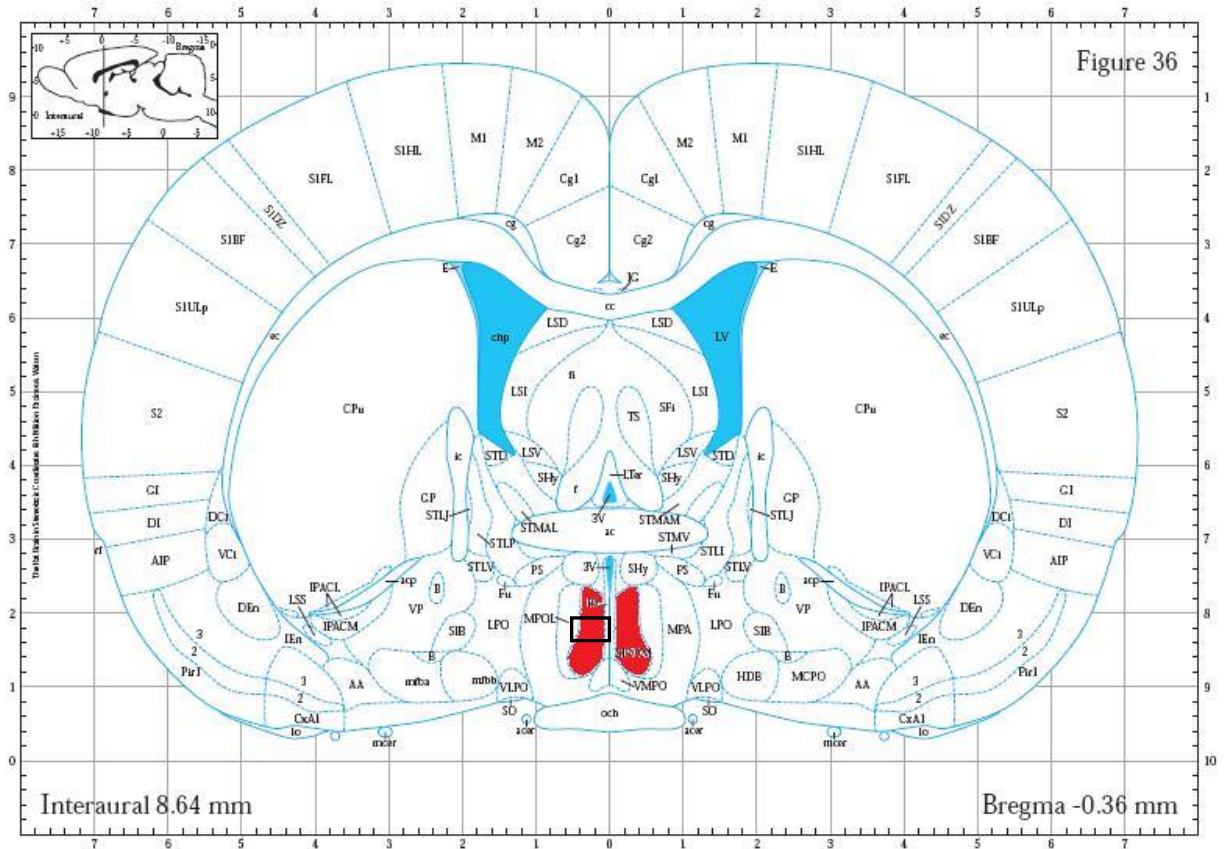


Figura 4. Fotomicrografias de seções coronais do MPO mostrando neurônios imunorreativos à proteína Fos (marcação nuclear preta) de ratos Wistar Naïf, não treinado e treinado, e de animais SHR Naïf, não treinado e treinado. Esquema representa região analisada no MPO (quadrado). Imagens obtidas na objetiva 20x.

Efeito do treinamento físico sobre a ativação neuronal e a expressão de vasopressina no PVN em decorrência do exercício (gráfico 7).

Observou-se maior ativação do PVN nos animais não treinados em comparação ao grupo Naïf, tanto nos animais Wistar quanto SHR. Os animais treinados, também de ambas as linhagens, apresentaram aumento dos neurônios imunorreativos ao c-Fos no PVN em comparação aos animais não treinados e Naïf correspondentes (Wistar: $127,7 \pm 10,6$ neurônios c-Fos-ir/secção, treinados vs $90,9 \pm 7,3$ neurônios c-Fos-ir/secção, não treinados vs $17,9 \pm 0,5$ neurônios c-Fos-ir/secção, Naïf; SHR: $97,3 \pm 3,4$ neurônios c-Fos-ir/secção, treinados vs $68,8 \pm 4,0$ neurônios c-Fos-ir/secção, não treinados vs $16,6 \pm 1,0$ neurônios c-Fos-ir/secção, Naïf $p < 0,05$). Somente os animais SHR treinados apresentaram ativação neuronal 24% menor no PVN em comparação com os animais Wistar correspondentes.

Verificou-se maior expressão de vasopressina no PVN dos animais não treinados em comparação ao grupo Naïf, tanto nos animais Wistar quanto SHR. Os animais treinados, também de ambas as linhagens, apresentaram aumento da expressão de vasopressina no PVN em comparação aos animais não treinados e Naïf correspondentes (Wistar: $96,3 \pm 8,1$ neurônios vasopressina-ir/secção, treinados vs $62,5 \pm 4,5$ neurônios vasopressina-ir/secção, não treinados vs $15,4 \pm 0,8$ neurônios vasopressina-ir/secção, Naïf; SHR: $73,5 \pm 3,5$ neurônios vasopressina-ir/secção, treinados vs $31,6 \pm 3,6$ neurônios vasopressina-ir/secção, não treinados vs $13,6 \pm 1,0$ neurônios vasopressina-ir/secção, Naïf $p < 0,05$). Os animais SHR treinados e não treinados apresentaram expressão de vasopressina 24% e 50% menor, respectivamente, em comparação com os animais Wistar correspondentes.

O número de neurônios duplamente marcados para Fos e vasopressina no PVN dos animais não treinados em comparação ao grupo Naïf foi maior, tanto nos animais Wistar quanto SHR. Os animais treinados, também de ambas as linhagens, apresentaram aumento do

número de neurônios duplamente marcados para Fos e vasopressina no PVN em comparação aos animais não treinados e Naïf correspondentes (Wistar: $48,5 \pm 4,6$ neurônios c-Fos-vasopressina-ir/secção, treinados *vs* $28,8 \pm 2,5$ neurônios c-Fos-vasopressina-ir/secção, não treinados *vs* $7,5 \pm 0,4$ neurônios c-Fos-vasopressina-ir/secção, Naïf; SHR: $30,8 \pm 2,6$ neurônios c-Fos-vasopressina-ir/secção, treinados *vs* $14,3 \pm 1,7$ neurônios c-Fos-vasopressina-ir/secção, não treinados *vs* $7,6 \pm 0,4$ neurônios c-Fos-vasopressina-ir/secção, Naïf $p < 0,05$). Os animais SHR treinados e não treinados apresentaram número de neurônios duplamente marcados para c-Fos e vasopressina no PVN 36% e 50% menor, respectivamente, em comparação com os animais Wistar correspondentes. Fotomicrografias representativas da dupla marcação para c-Fos e vasopressina no PVN são apresentadas na figura 5.

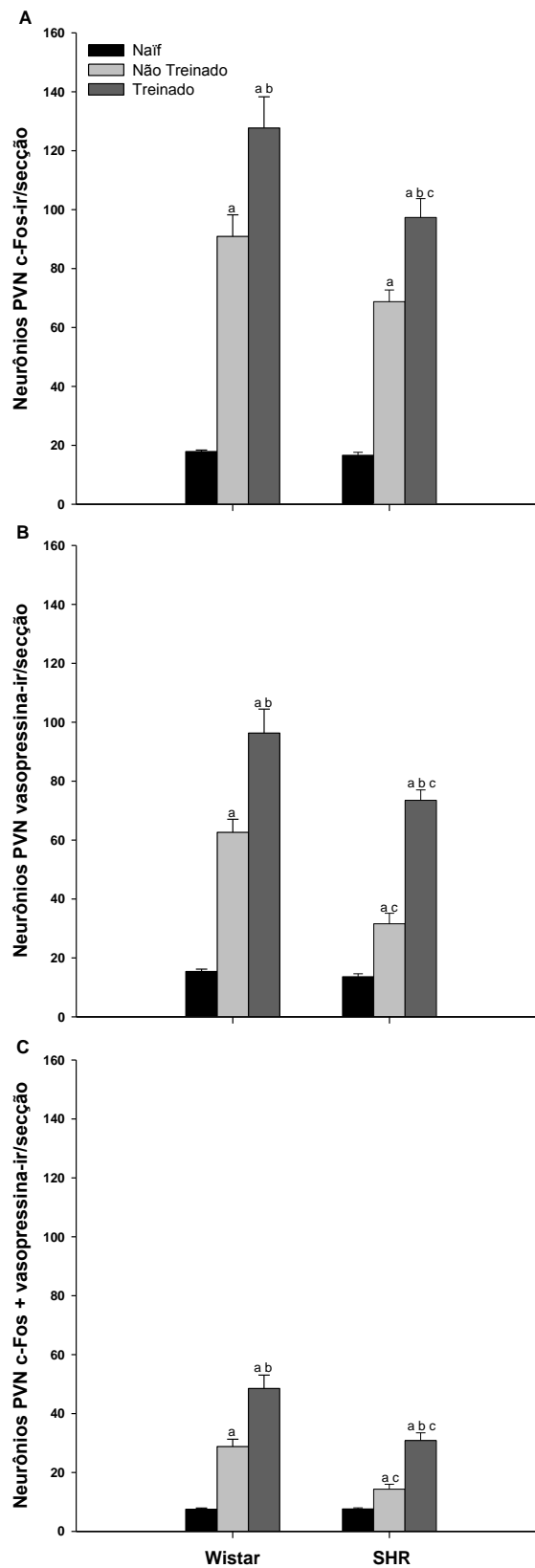


Gráfico 7. Efeito do treinamento físico sobre a ativação neuronal (A), a expressão de vasopressina (B) e a co-localização Fos e vasopressina (C) no PVN em decorrência do exercício progressivo até a fadiga em ratos Wistar e SHR (n=5/grupo). Dados expressos como média \pm EPM. ^a $p < 0,05$ vs. Naïf correspondente a mesma linhagem, ^b $p < 0,05$ treinado vs. não treinado correspondente a mesma linhagem, ^c $p < 0,05$ SHR vs. Wistar correspondente ao mesmo estado de treinamento físico.

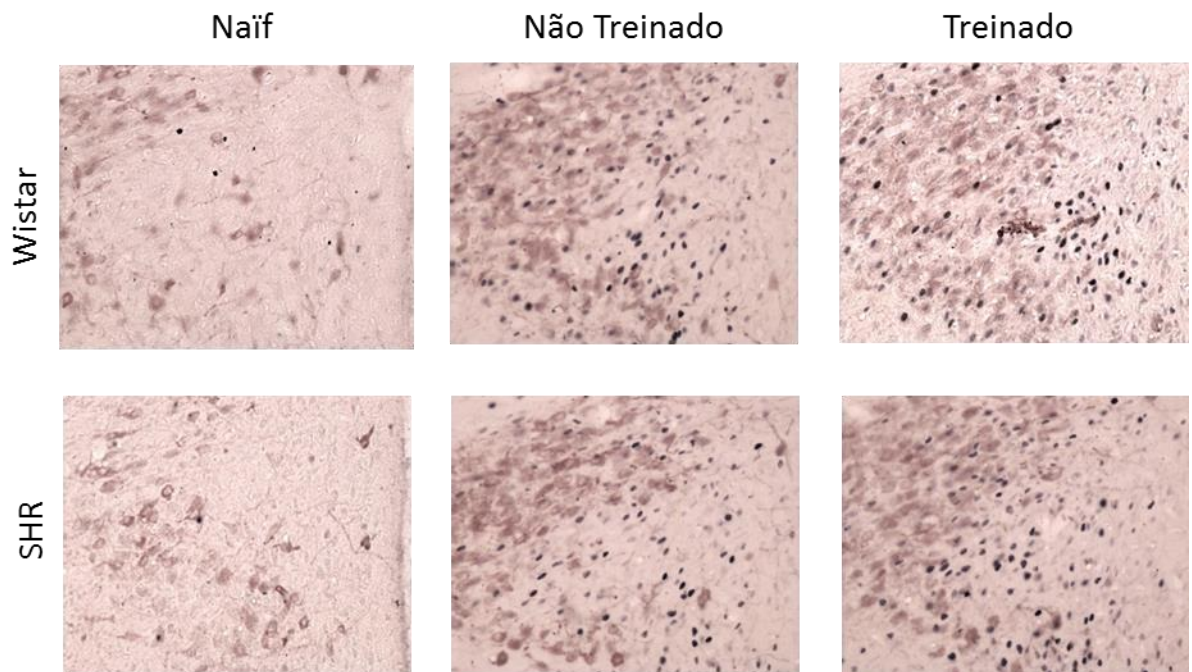
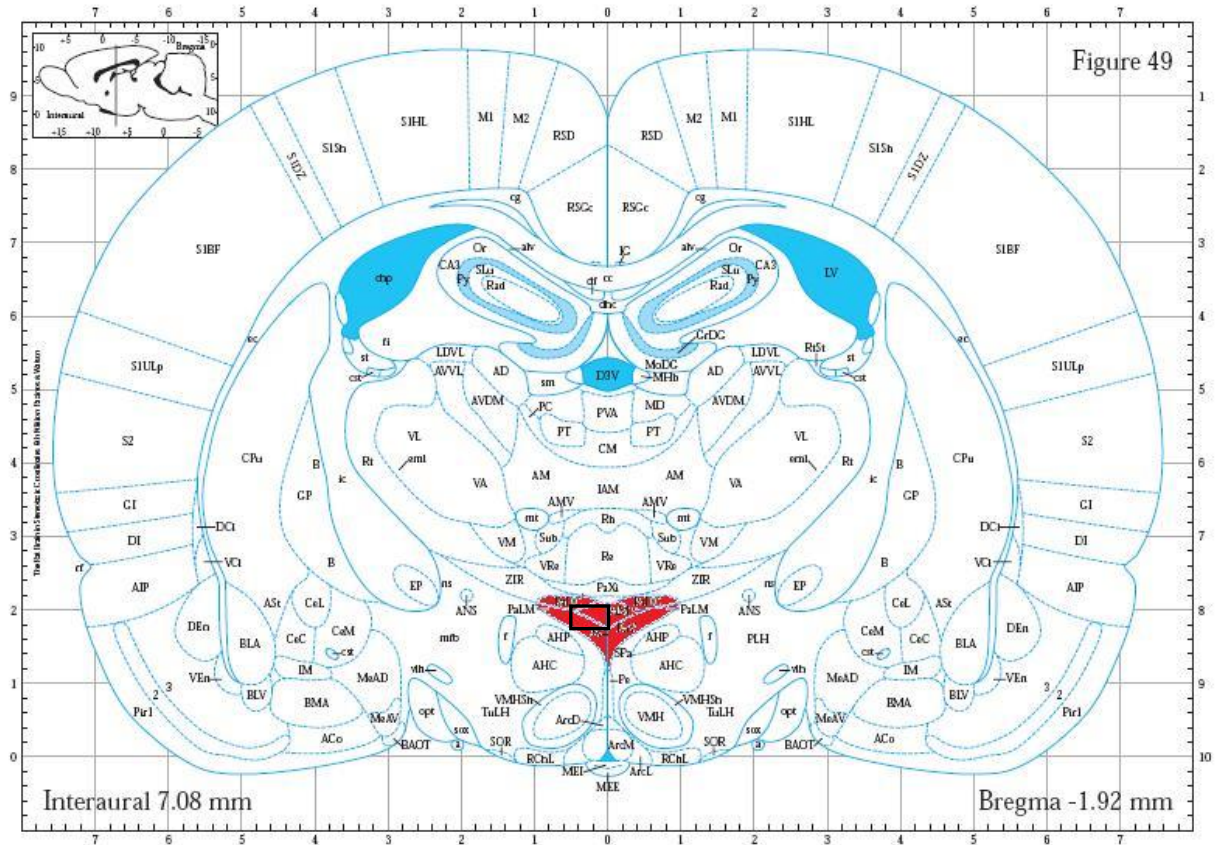


Figura 5. Fotomicrografias de secções coronais do PVN mostrando neurônios imunorreativos à proteína Fos (marcação nuclear preta) e à vasopressina (marcação citoplasmática marrom) de ratos Wistar Naïf, não treinado e treinado, e de animais SHR Naïf, não treinado e treinado. Esquema representa região analisada no PVN (quadrado). Imagens obtidas na objetiva 20x.

Efeito do treinamento físico sobre a expressão de ocitocina no PVN em decorrência do exercício (gráfico 8).

O número de neurônios marcados para ocitocina no PVN dos animais treinados em comparação aos grupos Naïf e não treinado foi maior, tanto na linhagem Wistar quanto SHR. Os animais SHR não treinados e Naïf apresentaram menor expressão de ocitocina no PVN em comparação aos animais Wistar correspondentes (Wistar: $47,5 \pm 2,5$ neurônios ocitocina-ir/secção, treinados vs $25,2 \pm 2,7$ neurônios ocitocina-ir/secção, não treinados vs $20,6 \pm 1,1$ neurônios ocitocina-ir/secção, Naïf; SHR: $40,0 \pm 3,2$ neurônios ocitocina-ir/secção, treinados vs $15,3 \pm 1,5$ neurônios ocitocina-ir/secção, não treinados vs $13,6 \pm 0,6$ neurônios ocitocina-ir/secção, Naïf $p < 0,05$).

Verificou-se maior número de neurônios duplamente marcados para Fos e ocitocina no PVN dos animais treinados em comparação aos grupos Naïf e não treinado, tanto nos animais Wistar quanto SHR. Os animais treinados SHR apresentaram menor número de neurônios duplamente marcados para Fos e ocitocina no PVN em comparação aos animais treinados Wistar (Wistar: $23,3 \pm 1,7$ neurônios c-Fos-ocitocina-ir/secção, treinados vs $9,1 \pm 1,1$ neurônios c-Fos-ocitocina-ir/secção, não treinados vs $5,5 \pm 0,7$ neurônios c-Fos-ocitocina-ir/secção, Naïf; SHR: $10,8 \pm 0,9$ neurônios c-Fos-ocitocina-ir/secção, treinados vs $5,8 \pm 0,7$ neurônios c-Fos-ocitocina-ir/secção, não treinados vs $2,8 \pm 0,4$ neurônios c-Fos-ocitocina-ir/secção, Naïf $p < 0,05$). Fotomicrografias representativas da dupla marcação para c-Fos e ocitocina no PVN são apresentadas na figura 6.

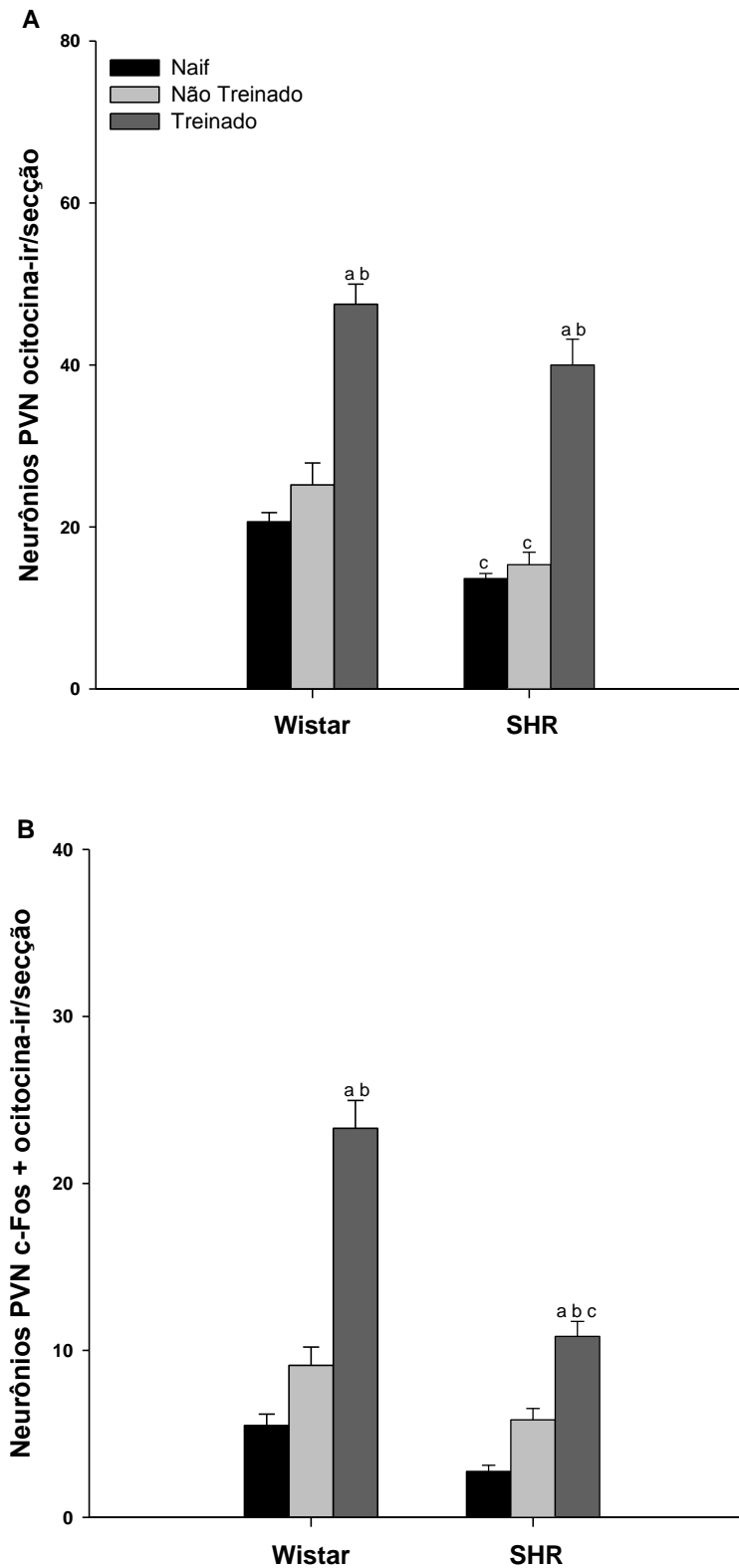


Gráfico 8. Efeito do treinamento físico sobre a expressão de ocitocina (A) e a co-localização Fos e ocitocina (B) no PVN em decorrência do exercício progressivo até a fadiga em ratos Wistar e SHR (n=5/grupo). Dados expressos como média \pm EPM. ^a $p < 0,05$ vs. Naïf correspondente a mesma linhagem, ^b $p < 0,05$ treinado vs. não treinado correspondente a mesma linhagem, ^c $p < 0,05$ SHR vs. Wistar correspondente ao mesmo estado de treinamento físico.

Efeito do treinamento físico sobre a ativação neuronal e a expressão de vasopressina no SON em decorrência do exercício (gráfico 9).

Observou-se maior ativação no SON nos animais treinados e não treinados em comparação ao grupo Naïf, tanto nos animais Wistar quanto SHR. Os animais SHR treinados e não treinados apresentaram menor número de neurônios imunorreativos ao c-Fos no SON em comparação aos animais correspondentes Wistar (Wistar: $57,3 \pm 2,5$ neurônios c-Fos-ir/secção, treinados vs $55,8 \pm 1,7$ neurônios c-Fos-ir/secção, não treinados vs $12,5 \pm 0,7$ neurônios c-Fos-ir/secção, Naïf; SHR: $43,6 \pm 1,9$ neurônios c-Fos-ir/secção, treinados vs $38,8 \pm 1,7$ neurônios c-Fos-ir/secção, não treinados vs $8,8 \pm 0,4$ neurônios c-Fos-ir/secção, Naïf $p < 0,05$).

Verificou-se maior expressão de vasopressina no SON nos animais treinados e não treinados em comparação ao grupo Naïf em ambas as linhagens. Os animais SHR apresentaram menor expressão de vasopressina no SON em comparação aos animais Wistar correspondentes (Wistar: $60,3 \pm 2,5$ neurônios vasopressina-ir/secção, treinados vs $57,6 \pm 1,9$ neurônios vasopressina-ir/secção, não treinados vs $21,9 \pm 0,9$ neurônios vasopressina-ir/secção, Naïf; SHR: $49,2 \pm 1,9$ neurônios vasopressina-ir/secção, treinados vs $45,1 \pm 1,8$ neurônios vasopressina-ir/secção, não treinados vs $14,0 \pm 0,5$ neurônios vasopressina-ir/secção, Naïf $p < 0,05$).

O número de neurônios duplamente marcados para Fos e vasopressina no SON dos animais treinados e não treinados foi maior em comparação ao grupo Naïf, tanto nos animais Wistar quanto SHR. Os animais SHR treinados e não treinados apresentaram menor dupla marcação ao c-Fos e à vasopressina no SON em comparação aos animais Wistar correspondentes (Wistar: $40,3 \pm 2,5$ neurônios c-Fos-vasopressina-ir/secção, treinados vs $35,4 \pm 2,1$ neurônios c-Fos-vasopressina-ir/secção, não treinados vs $14,1 \pm 0,7$ neurônios c-Fos-

vasopressina-ir/secção, Naïf; SHR: $28,2 \pm 1,9$ neurônios c-Fos-vasopressina-ir/secção, treinados vs $24,6 \pm 1,7$ neurônios c-Fos-vasopressina-ir/secção, não treinados vs $11,9 \pm 0,8$ neurônios c-Fos-vasopressina-ir/secção, Naïf $p < 0,05$). Fotomicrografias representativas da dupla marcação para c-Fos e vasopressina no SON são apresentadas na figura 7.

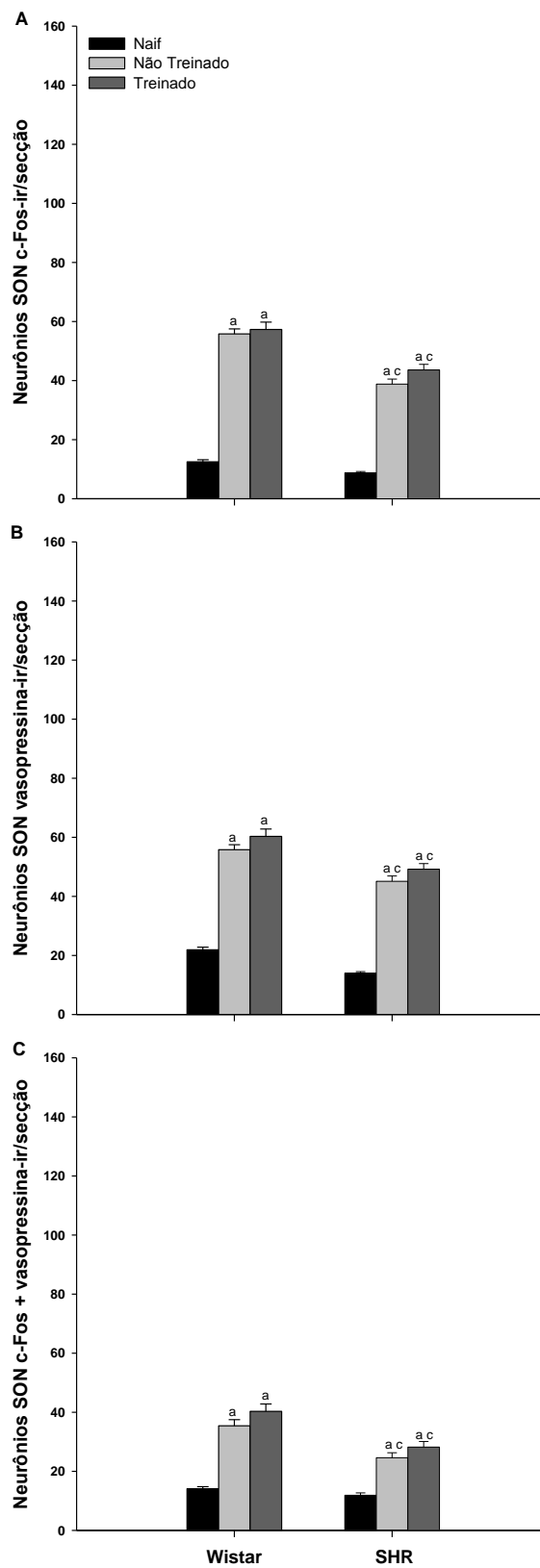


Gráfico 9. Efeito do treinamento físico sobre a ativação neuronal (A), a expressão de vasopressina (B) e a co-localização Fos e vasopressina (C) no SON em decorrência do exercício progressivo até a fadiga em ratos Wistar e SHR (n=5/grupo). Dados expressos como média \pm EPM. ^a $p < 0,05$ vs. Naïf correspondente a mesma linhagem, ^c $p < 0,05$ SHR vs. Wistar correspondente ao mesmo estado de treinamento físico.

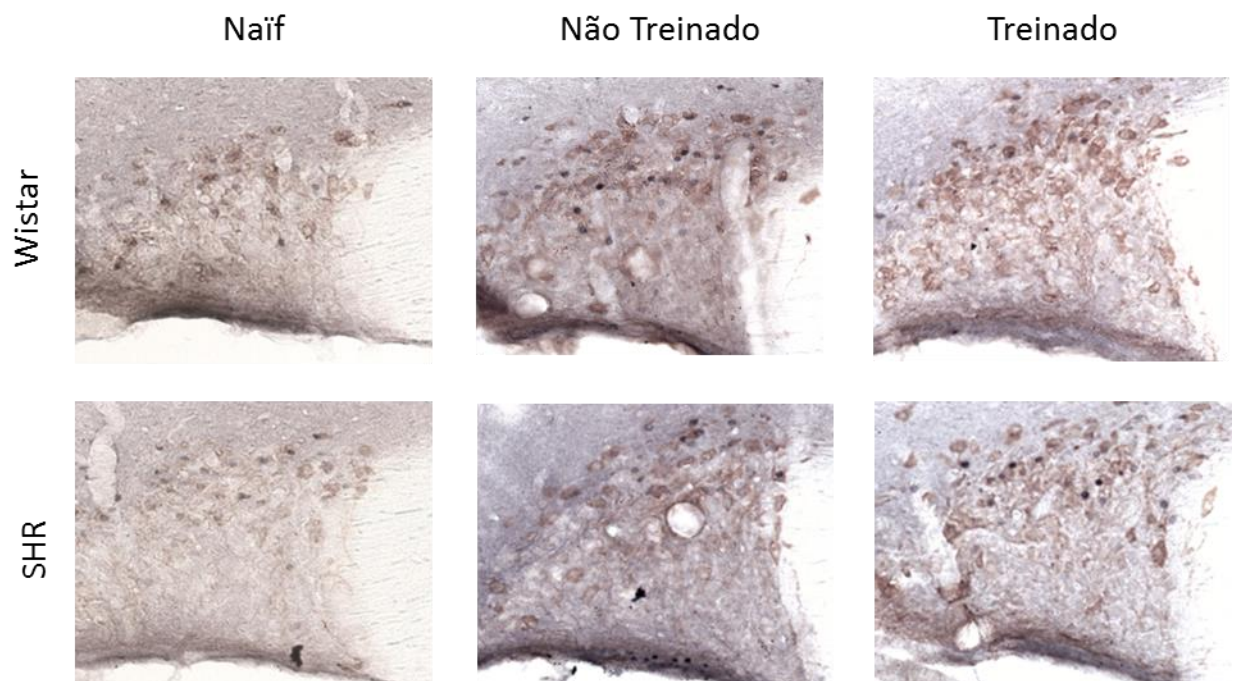
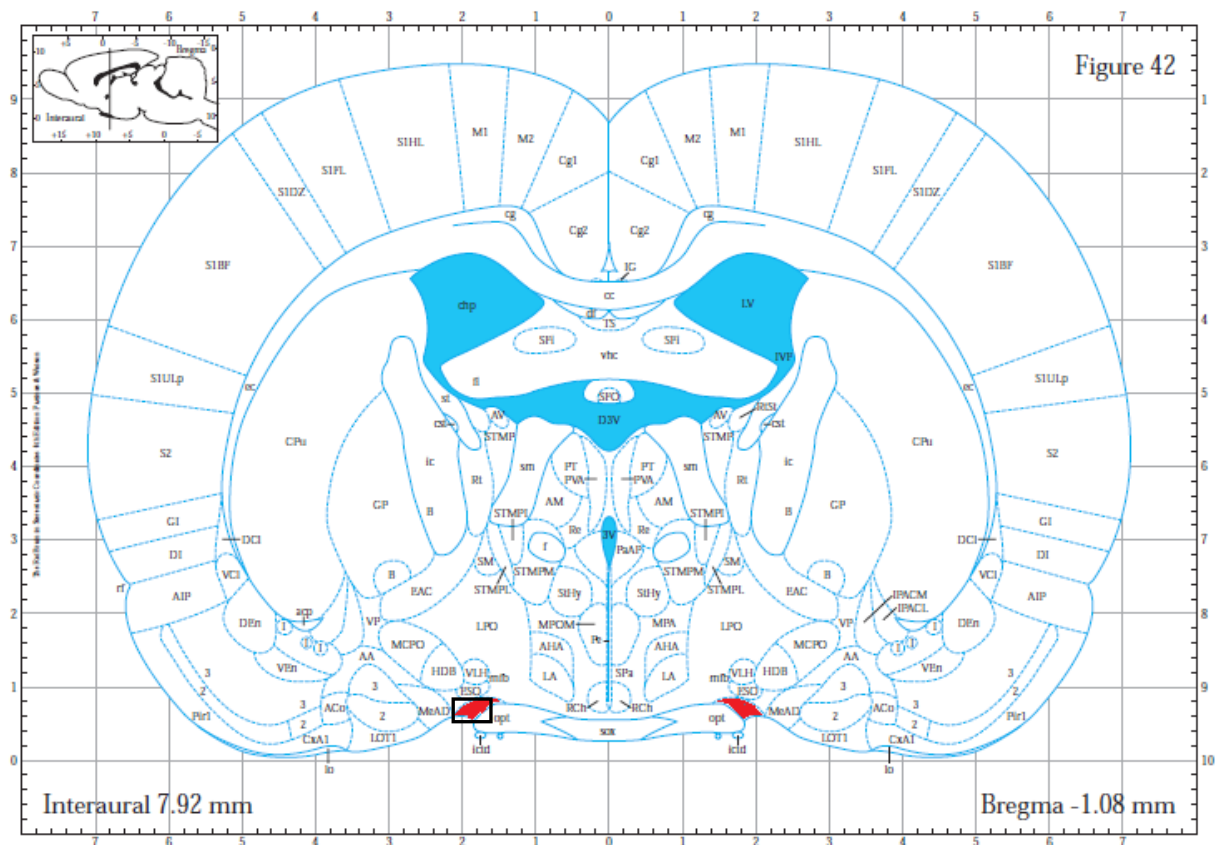


Figura 7. Fotomicrografias de seções coronais do SON mostrando neurônios imunorreativos à proteína Fos (marcação nuclear preta) e à vasopressina (marcação citoplasmática marrom) de ratos Wistar Naïf, não treinado e treinado, e de animais SHR Naïf, não treinado e treinado. Esquema representa região analisada no SON (quadrado). Imagens obtidas na objetiva 20x.

Efeito do treinamento físico sobre a expressão de ocitocina no SON em decorrência do exercício (gráfico 10).

O número de neurônios marcados para ocitocina no SON nos animais treinados e não treinados em comparação ao grupo Naïf foi maior, tanto na linhagem Wistar quanto SHR. Os animais SHR treinados e não treinados apresentaram menor expressão de ocitocina no SON em comparação aos animais Wistar correspondentes (Wistar: 48,3 ± 2,5 neurônios ocitocina-ir/secção, treinados *vs* 45,8 ± 1,7 neurônios ocitocina-ir/secção, não treinados *vs* 7,9 ± 0,9 neurônios ocitocina-ir/secção, Naïf; SHR: 34,2 ± 1,9 neurônios ocitocina-ir/secção, treinados *vs* 31,8 ± 1,7 neurônios ocitocina-ir/secção, não treinados *vs* 6,8 ± 0,4 neurônios ocitocina-ir/secção, Naïf $p < 0,05$).

Verificou-se maior número de neurônios duplamente marcados para Fos e ocitocina no SON dos animais treinados e não treinados em comparação ao grupo Naïf, tanto nos animais Wistar quanto SHR. Os animais SHR treinados apresentaram menor número de neurônios duplamente marcados para Fos e ocitocina no SON em comparação ao grupo Wistar correspondente (Wistar: 25,3 ± 2,5 neurônios c-Fos-ocitocina-ir/secção, treinados *vs* 19,8 ± 1,7 neurônios c-Fos-ocitocina-ir/secção, não treinados *vs* 4,1 ± 0,7 neurônios c-Fos-ocitocina-ir/secção, Naïf; SHR: 18,2 ± 1,9 neurônios c-Fos-ocitocina-ir/secção, treinados *vs* 16,8 ± 1,7 neurônios c-Fos-ocitocina-ir/secção, não treinados *vs* 2,8 ± 0,4 neurônios c-Fos-ocitocina-ir/secção, Naïf $p < 0,05$). Fotomicrografias representativas da dupla marcação para c-Fos e ocitocina no SON são apresentadas na figura 8.

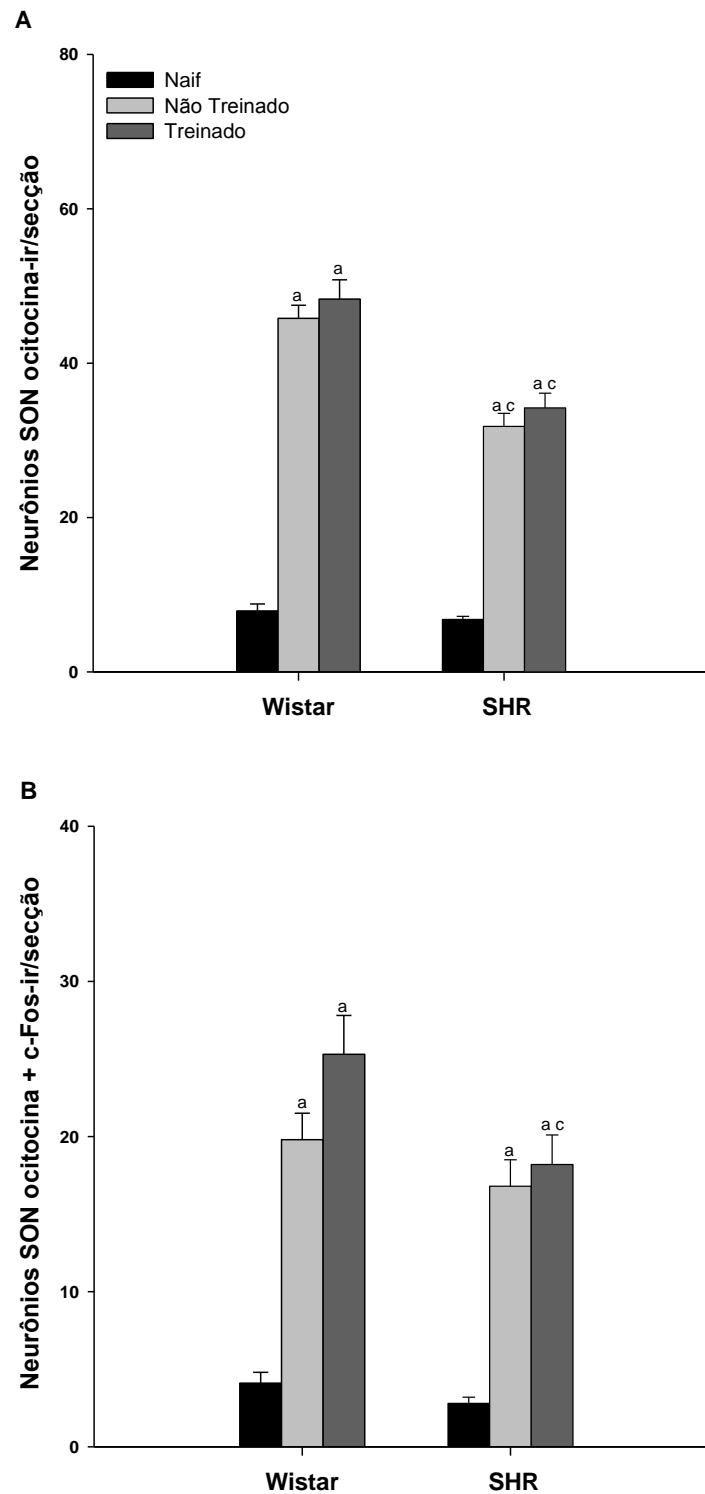


Gráfico 10. Efeito do treinamento físico sobre a expressão de ocitocina (A) e a co-localização Fos e ocitocina (B) no SON em decorrência do exercício progressivo até a fadiga em ratos Wistar e SHR (n=5/grupo). Dados expressos como média \pm EPM. ^a $p < 0,05$ vs. Naif correspondente a mesma linhagem, ^c $p < 0,05$ SHR vs. Wistar correspondente ao mesmo estado de treinamento físico.

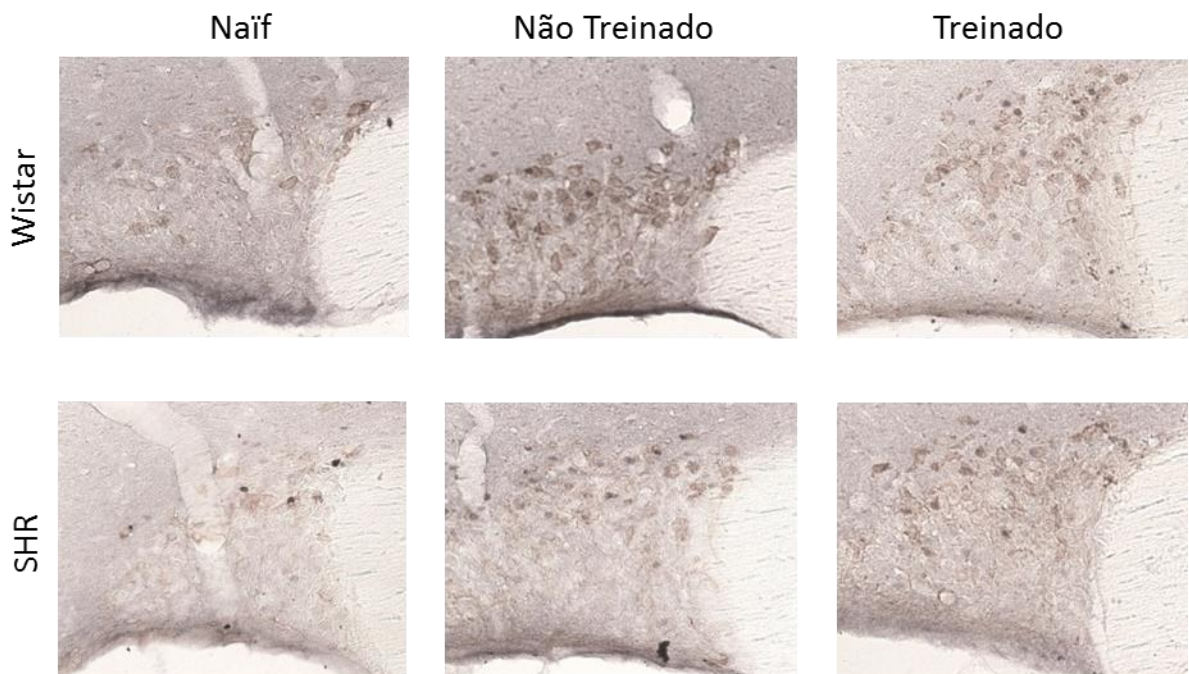
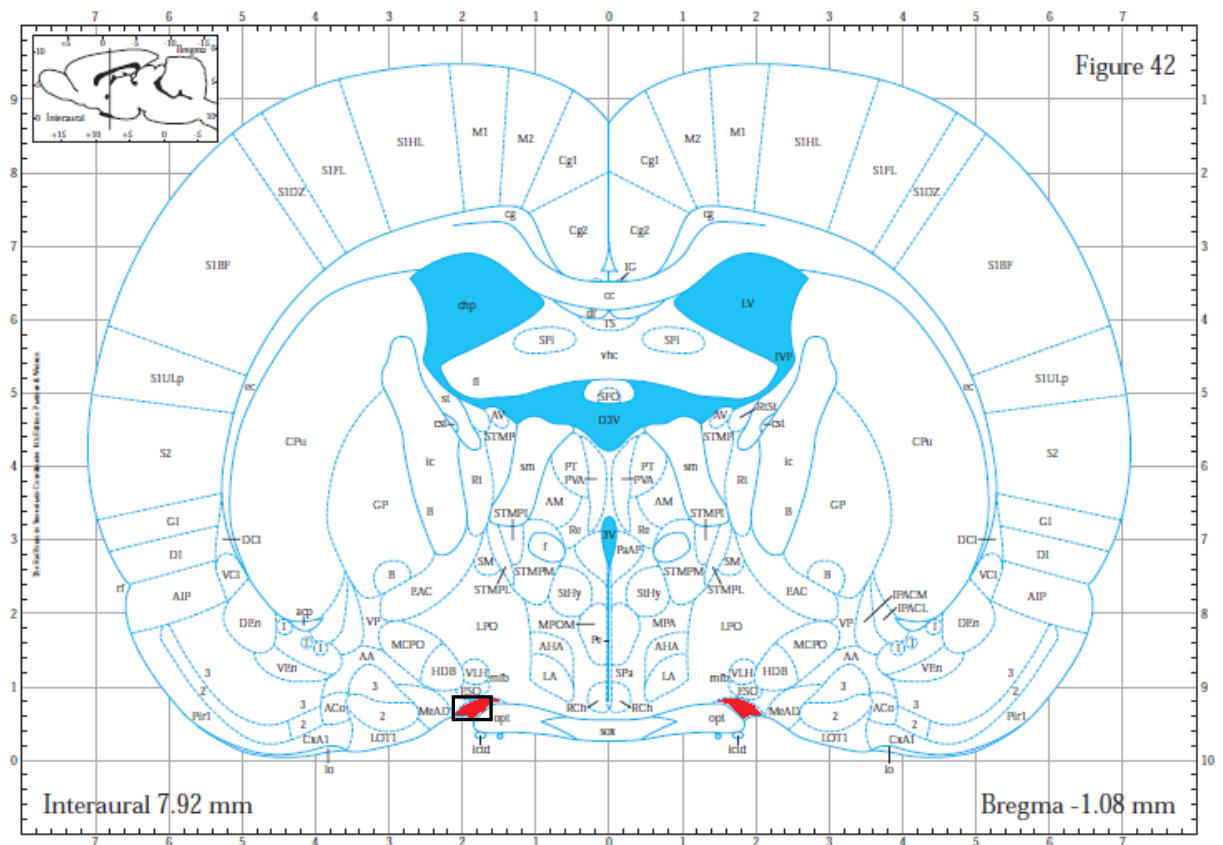


Figura 8. Fotomicrografias de secções coronais do SON mostrando neurônios imunorreativos à proteína Fos (marcação nuclear preta) e à ocitocina (marcação citoplasmática marrom) de ratos Wistar Naïf, não treinado e treinado, e de animais SHR Naïf, não treinado e treinado. Esquema representa região analisada no SON (quadrado). Imagens obtidas na objetiva 20x.

Correlação entre a imunomarcação de c-Fos no MnPO e MPO e o trabalho realizado durante o exercício progressivo até a fadiga (gráfico 11).

Constatou-se correlações positivas entre o trabalho realizado pelos animais normotensos e hipertensos e a imunomarcação de c-Fos no MnPo e no MPO em decorrência do exercício progressivo até a fadiga.

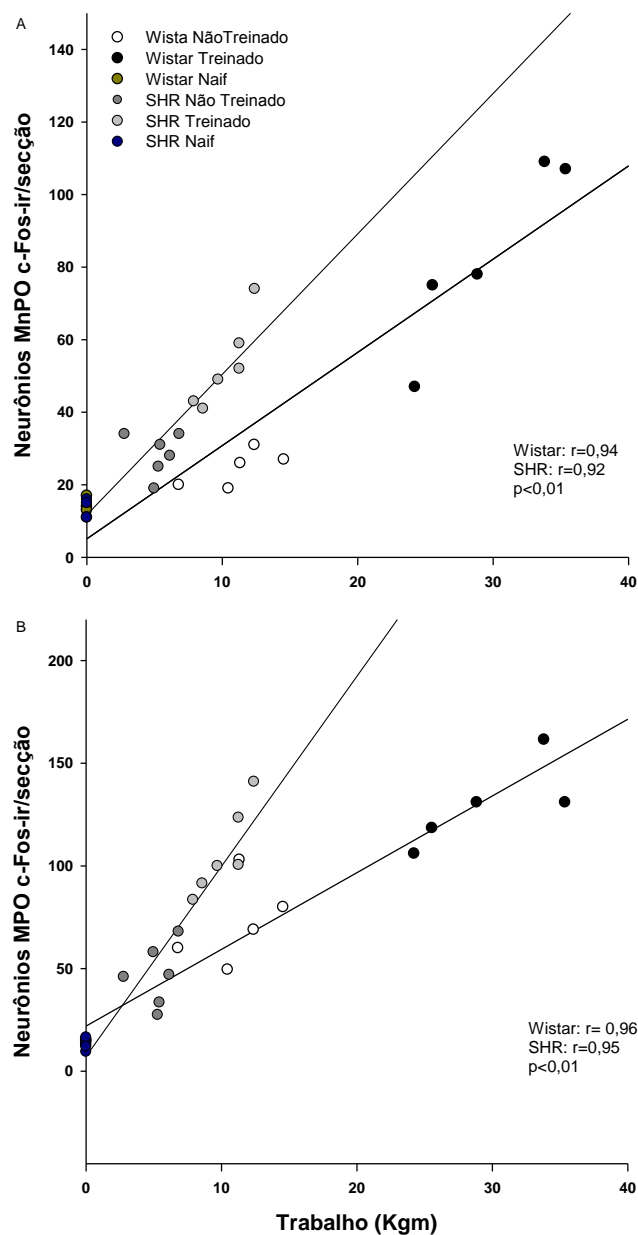


Gráfico 11. Correlações entre o trabalho realizado durante o exercício progressivo até a fadiga em ratos Wistar e SHR e a imunomarcação de c-Fos no MnPO (A) e no MPO (B).

Correlação entre a imunomarcação de c-Fos e a expressão de vasopressina no PVN e o trabalho realizado durante o exercício (gráfico 12).

Constatou-se correlações positivas entre o trabalho realizado pelos animais normotensos e hipertensos e a imunomarcação de c-Fos, a expressão de vasopressina e o número de neurônios duplamente marcados para c-Fos e vasopressina no PVN em decorrência do exercício progressivo até a fadiga.

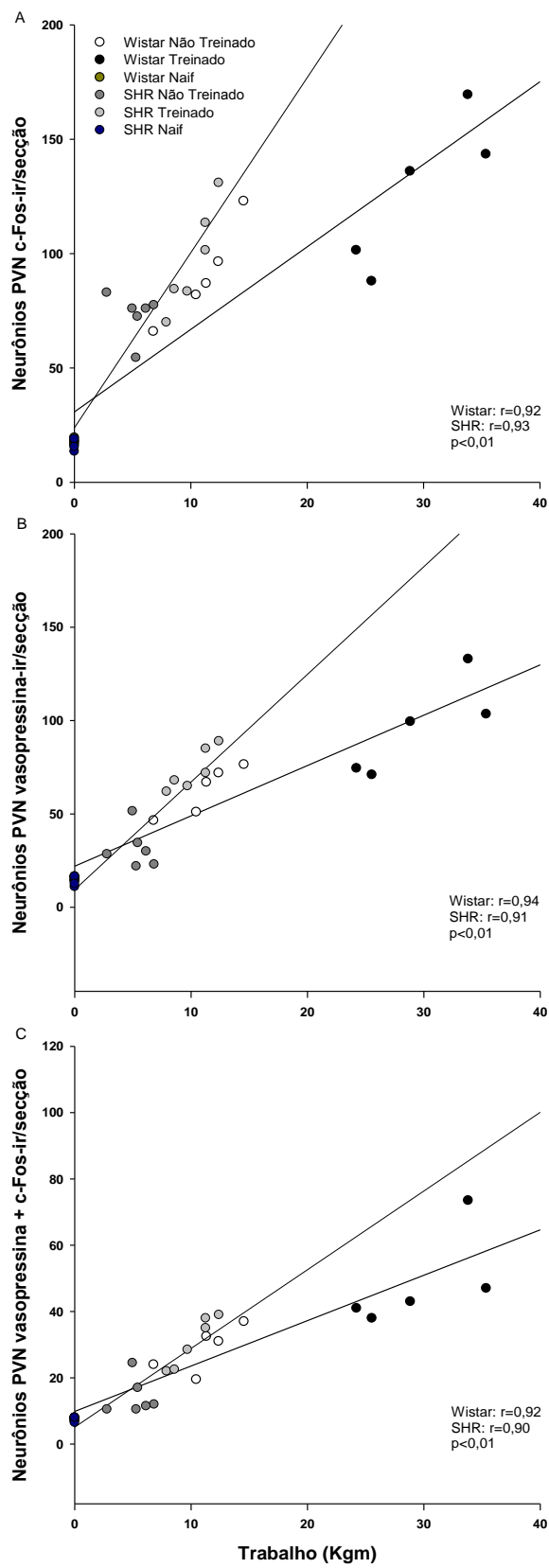


Gráfico 12. Correlações entre o trabalho realizado durante o exercício progressivo até a fadiga em ratos Wistar e SHR e a imunomarcagem de c-Fos (A), a expressão de vasopressina (B) e a co-localização de c-Fos e vasopressina (C) no PVN.

Correlação entre a imunomarcação de c-Fos e a expressão de ocitocina no PVN e o trabalho realizado durante o exercício (gráfico 13).

Constatou-se correlações positivas entre o trabalho realizado pelos animais normotensos e hipertensos e a expressão de ocitocina e o número de neurônios duplamente marcados para c-Fos e ocitocina no PVN em decorrência do exercício progressivo até a fadiga.

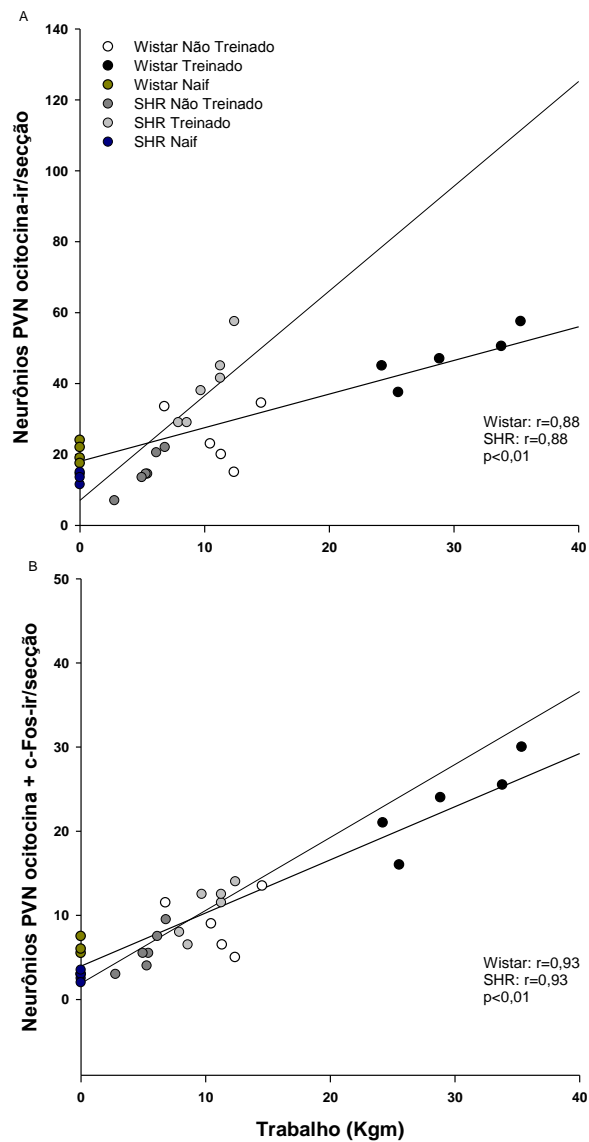


Gráfico 13. Correlações entre o trabalho realizado durante o exercício progressivo até a fadiga em ratos Wistar e SHR e a expressão de ocitocina (A) e a co-localização de c-Fos e ocitocina (B) no PVN.

Correlação entre a imunomarcação de c-Fos e a expressão de vasopressina no SON e o trabalho realizado durante o exercício (gráfico 14).

Constatou-se correla es positivas entre o trabalho realizado pelos animais normotensos e hipertensos e a imunomarcação de c-Fos no SON, assim como a expressão de vasopressina e o número de neurônios duplamente marcados para c-Fos e vasopressina no PVN em decorrência do exercício progressivo até a fadiga.

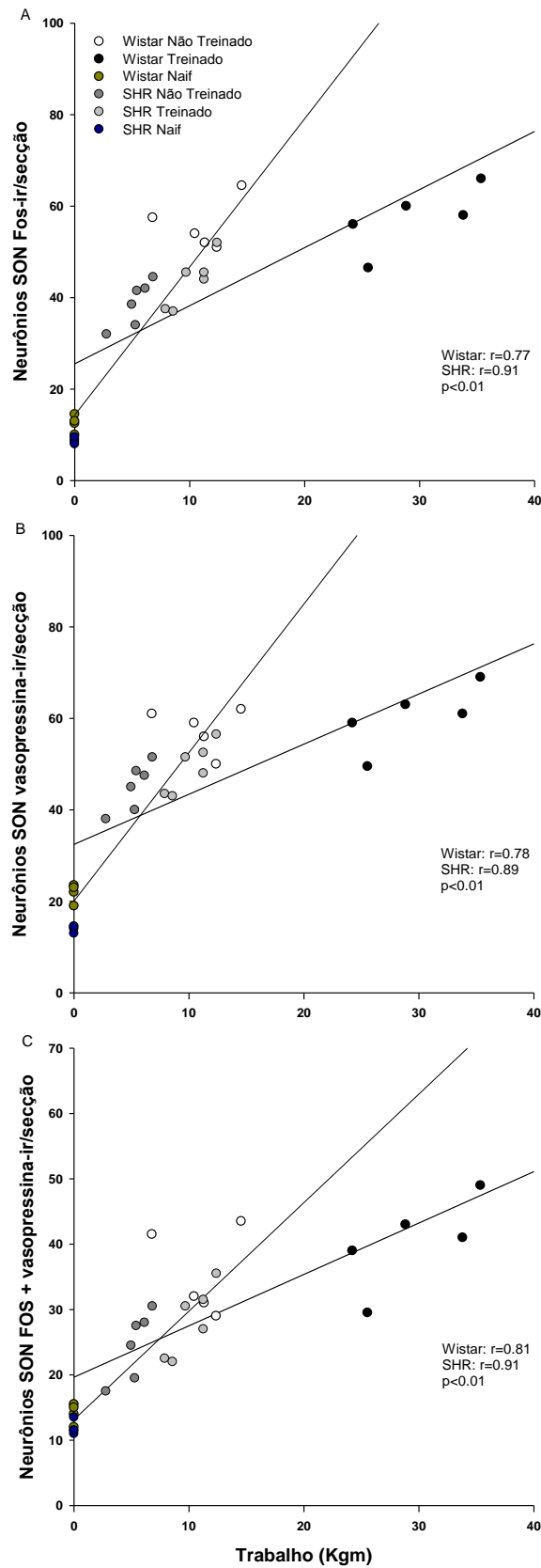


Gráfico 14. Correlações entre o trabalho realizado durante o exercício progressivo até a fadiga em ratos Wistar e SHR e a imunomarcagem de c-Fos (A), a expressão de vasopressina (B) e a co-localização de c-Fos e vasopressina (C) no SON.

Correlação entre a imunomarcação de c-Fos e a expressão de ocitocina no SON e o trabalho realizado durante o exercício (gráfico 15).

Constatou-se correlações positivas entre o trabalho realizado pelos animais normotensos e hipertensos e a expressão de ocitocina e o número de neurônios duplamente marcados para c-Fos e ocitocina no SON em decorrência do exercício progressivo até a fadiga.

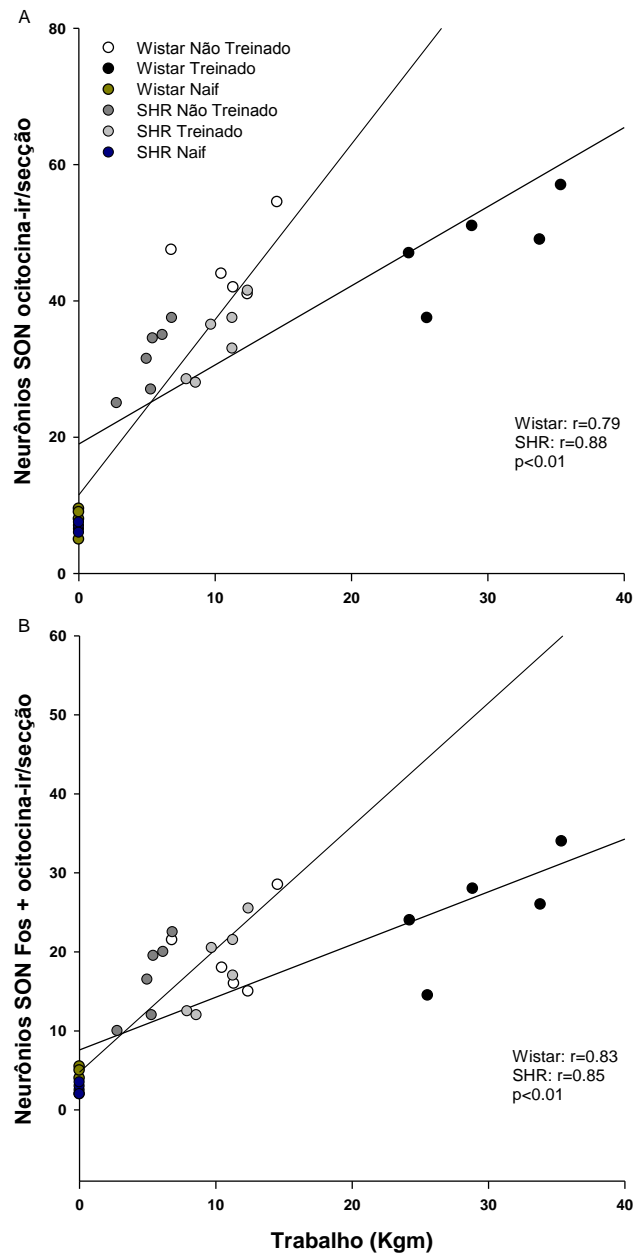


Gráfico 15. Correlações entre o trabalho realizado durante o exercício progressivo até a fadiga em ratos Wistar e SHR e a expressão de ocitocina (A) e a co-localização de c-Fos e ocitocina (C) no SON.

V. DISCUSSÃO:

O presente estudo demonstrou que o exercício progressivo até a fadiga aumenta a ativação neuronal hipotalâmica em animais normotensos e hipertensos, assim como eleva a imunomarcagem de vasopressina no PVN e no SON. Apesar da resposta atenuada nos ratos SHR, verificou-se que a atividade neuronal do MnPO, do MPO e do PVN após o exercício físico foi potencializada pelo treinamento físico, o qual melhorou o desempenho físico e o balanço térmico dos animais. O aprimoramento do balanço térmico possivelmente foi favorecido por esse maior recrutamento neuronal, resultando em redução das taxas de aquecimento corporal e de acúmulo de calor nos ratos Wistar e SHR. Ademais, o treinamento físico induz maior ativação de neurônios vasopressinérgicos e ocitocinérgicos no PVN de animais normotensos e hipertensos mediante o exercício progressivo até a fadiga, a qual foi diretamente associada com o trabalho desempenhado. Os dados sugerem que o recrutamento neuronal desses centros hipotalâmicos e a atividade de neurônios vasopressinérgicos e ocitocinérgicos no PVN estão associados com o aprimoramento do desempenho físico nos animais treinados, possivelmente por aprimorar o balanço térmico. Ademais, a resposta hipotalâmica atenuada nos ratos SHR indica efeito inibitório da hipertensão arterial sobre a plasticidade neuronal induzida pelo treinamento físico.

Durante o exercício físico a temperatura corporal interna aumenta intensamente (fase dinâmica do balanço térmico) até o estabelecimento do limiar térmico para vasodilatação cutânea, o qual facilita a dissipação de calor. A partir daí, a temperatura corporal interna estabiliza-se em um nível mais elevado (fase estável do balanço térmico) e assim permanece até a fadiga. No presente estudo, esse perfil dinâmico da alteração da temperatura corporal interna durante a atividade física foi observado somente nos animais normotensos. Como demonstrado previamente, durante os primeiros 15 minutos de atividade física progressiva

dos animais Wistar, a temperatura corporal interna aumentou abruptamente e em seguida estabilizou-se (Santiago et al., 2016). Esse momento de transição entre as fases dinâmica e estável do balanço térmico coincidiu com o estabelecimento do limiar térmico para a vasodilatação cutânea, indicando aumento da capacidade de dissipar calor dos ratos Wistar. Essa resposta permitiu o equilíbrio entre as taxas de produção e dissipação de calor e, portanto, estabilização da temperatura corporal interna nos animais normotensos.

Adaptações induzidas pelo treinamento físico permitem aprimoramento na dissipação de calor (Ichinose et al., 2009; Takeno et al., 2001; Thomas et al., 1999), além de maior eficiência mecânica (Hintzy et al., 2005), resultando em menor quantidade de calor para ser dissipado durante o exercício físico. Este estudo demonstrou que o treinamento físico diminuiu o limiar térmico para vasodilatação da cauda nos animais Wistar, conforme previamente apresentado (Santiago et al., 2016). Isto quer dizer que a vasodilatação da cauda foi induzida sob uma temperatura corporal interna mais baixa nos animais normotensos treinados. Assim, nestes ratos, a dissipação de calor através da cauda foi antecipada. Tais efeitos decorrentes do treinamento físico possivelmente contribuíram para o equilíbrio entre a dissipação e a produção de calor nos animais normotensos, estabilizando a temperatura corporal interna por período prolongado durante o exercício progressivo, inclusive durante o período de intensidade elevada na qual a produção de calor seria exacerbada (Leite et al., 2009; Wisloff et al., 2001). Ainda assim, verificou-se uma segunda elevação da temperatura corporal interna nos animais Wistar treinados. Isso possivelmente foi consequência de elevação intensa da produção de calor, resultando em novo desequilíbrio térmico. Contribui para tal desbalanço uma provável saturação da capacidade de dissipação de calor e o deterioramento da eficiência mecânica após 50 minutos de exercício progressivo, momento no qual a potência da atividade física encontrava-se demasiadamente elevada. Contudo, a possibilidade de que o treinamento físico também resultou em maior taxa metabólica não pode ser excluída, uma vez que esse

aprimoramento dos mecanismos de perda de calor não ocasionou diferença na temperatura corporal interna entre os ratos Wistar treinados e não treinados durante o exercício progressivo até a fadiga. Essa hipótese é apoiada por estudo que demonstrou aumento da densidade e do poder oxidativo de mitocôndrias musculares esqueléticas associado ao treinamento físico, sugerindo maior produção de calor (Fernström et al.,2003). Portanto, um aumento da taxa metabólica seria compensado por maior dissipação de calor, mantendo a temperatura corporal interna semelhante entre os grupos.

Por outro lado, os animais hipertensos apresentaram elevação da temperatura corporal interna crescente e concomitante com cada intervalo de aumento de intensidade do exercício progressivo. Ademais, a variação da temperatura corporal interna atingiu valores demasiadamente superiores nos animais SHR em comparação com os animais Wistar. Isso possivelmente foi consequência de elevação intensa da produção de calor, não compensado por dissipação de calor proporcional. Corroborando com essa proposta, foi demonstrado que ratos SHR apresentam elevação da temperatura corporal interna ao final da atividade física, associada a maior produção de calor e nenhuma alteração na dissipação de calor (Campos et al., 2014). O deterioramento da eficiência mecânica nos animais hipertensos, o qual resulta em maior quantidade de calor para ser dissipado durante o exercício físico, pode também ter favorecido tal desequilíbrio térmico (Campos et al., 2014). Neste estudo, os animais SHR apresentaram limiar térmico para vasodilatação da cauda e temperatura da cauda semelhantes aos dos animais Wistar. Essas respostas não foram modificadas pelo treinamento físico, indicando que o mecanismo de dissipação de calor permaneceu preservado. Portanto, a produção de calor crescente possivelmente contribuiu para o considerável desequilíbrio térmico durante o exercício progressivo até a fadiga e as maiores taxas de aquecimento corporal e de acúmulo de calor observadas nos animais hipertensos em comparação com os animais normotensos.

No presente estudo, os animais treinados, tanto Wistar quanto SHR, apresentaram menores taxas de aquecimento corporal e de acúmulo de calor durante o exercício progressivo até a fadiga. Em relação aos animais normotensos, tal adaptação sobre o equilíbrio térmico já foi demonstrada, indicando que esta se deve ao aprimoramento da dissipação de calor através da diminuição do limiar térmico para vasodilatação cutânea (Santiago et al., 2016). O mesmo raciocínio não se aplica aos ratos hipertensos diante a evidência de que o mencionado limiar não se alterou nos animais SHR treinados, em comparação com o grupo não treinado correspondente. No entanto, não podem ser desconsideradas outras vias de perda de calor, como a dissipação de calor através das patas e do trato respiratório (Gordon, 1990), provavelmente também influenciadas positivamente pelo treinamento físico.

Já é bem definido que taxas de aquecimento corporal e de acúmulo de calor elevadas são fatores limitantes para o desempenho físico, os quais reduzem o comando do sistema nervoso central para a continuidade da atividade física, precipitando a fadiga (Leite et al., 2006; Rodrigues et al., 2003). Portanto, a melhora do balanço térmico observada nos animais treinados possivelmente contribuiu para o aprimoramento da capacidade física, como demonstrado pelo maior tempo de exercício até a fadiga e maior velocidade máxima atingida (Santiago et al., 2016). Em comparação aos animais normotensos, observou-se que os animais SHR apresentaram redução ainda mais considerável do desempenho físico. Sabe-se que a dissipação é mais importante do que o controle da produção de calor para a regulação da temperatura corporal interna durante o exercício físico (Webb, 1995). Portanto, o aumento intenso da produção de calor não compensado pela dissipação equivalente do mesmo, observado nos ratos SHR, possivelmente está relacionado com maior sobrecarga térmica imposta a estes animais (Campos et al., 2014). Levando-se em consideração esses aspectos, as demandas termorregulatória e metabólica para aumentar o fluxo sanguíneo para cauda e para os músculos, respectivamente, seriam ambas elevadas. Dessa forma, o coração poderia ser

incapaz de bombear sangue suficiente para atender tais demandas, contribuindo para a interrupção do exercício físico uma vez que a capacidade de bombeamento cardíaco poderia se exceder (González-Alonso et al., 2008).

A área pré-óptica é considerada o principal sítio de integração sensório-motor da termorregulação (Nakamura & Morrison, 2010; Romanovsky et al., 2009). Em relação às conexões nervosas para iniciação de respostas de defesa ao calor, estudos demonstraram que sinais sensoriais de aquecimento são transmitidos principalmente para neurônios glutamatérgicos do MnPO (Nakamura & Morrison, 2010). Por sua vez, a conexão deste núcleo com o MPO é de natureza estimulatória sobre os neurônios GABAérgicos, os quais suprimem tonicamente repostas de conservação de calor, inclusive a vasoconstrição da pele (Morrison & Nakamura, 2011; Romanovsky et al., 2009). Achados indicam que o PVN contém neurônios sensíveis à temperatura que controlam o tônus simpático da vasculatura da cauda, assim, a ativação desse núcleo desencadeia inibição simpática, isto é, vasodilatação da pele, via liberação de GABA (Cham & Badoer 2007, Leite et al., 2012).

O presente estudo demonstrou maior ativação neuronal do MnPO, do MPO, do PVN e do SON de animais SHR não treinados submetidos ao exercício progressivo até a fadiga quando comparados ao grupo Naïf. Observou-se que o treinamento físico aumentou ainda mais a imunomarcagem para c-Fos no MnPO, no MPO e no PVN dos animais hipertensos quando comparado aos animais SHR não treinados. Além disso, a ativação neuronal hipotalâmica dos animais SHR treinados foi consideravelmente menor em comparação com seus respectivos controles Wistar. Isso porque a magnitude da ativação neuronal desses centros termorreguladores parece estar relacionada à intensidade do exercício físico, sendo esta mais exacerbada nos ratos Wistar pois estes alcançaram intensidade mais elevada durante o exercício progressivo até a fadiga (Santiago et al., 2016). Tal aumento da atividade neuronal do MnPO, do MPO, do PVN e do SON correlacionou-se positivamente com o trabalho

realizado pelos animais durante o exercício progressivo até a fadiga. Esse achado indica que a maior ativação desses sítios termorregulatórios está intimamente associada com a melhora do desempenho físico dos animais tanto Wistar quanto SHR treinados, provavelmente devido à melhor adaptação ao estresse térmico. De fato, já foi comprovado que o treinamento físico aumenta o recrutamento neuronal em centros termorreguladores hipotalâmicos de animais normotensos, o qual é diretamente associado com o maior trabalho desempenhado, sendo este um possível mecanismo central subjacente ao aumento da dissipação de calor através da vasodilatação da cauda (Santiago et al., 2016). Apesar disso, como já evidenciado (Campos et al., 2014), e comprovado no presente estudo, a dissipação de calor através da vasodilatação da cauda não se alterou em ratos SHR durante o exercício progressivo até a fadiga. Dessa maneira, é possível que o melhor desempenho físico dos animais treinados também esteja relacionado a outras adaptações cardiovasculares resultantes da maior ativação dos núcleos hipotalâmicos, particularmente do PVN, cuja interação com o núcleo do trato solitário influencia a atividade simpática cardiovascular (Martins et al., 2015). Evidências apontam que, além da redução do tônus simpático, desencadeando remodelamento do coração, com aumento do volume sistólico e diminuição da frequência cardíaca (Bernardo et al., 2010; Cavalleri et al., 2011), o treinamento físico também está relacionado a outras contribuições benéficas na hipertensão arterial, dentre elas o remodelamento eutrófico de arteríolas, causando normalização da razão parede-lúmen (Amaral et al., 2000) e o aumento da concentração de fatores relaxantes derivados do endotélio (Haram et al., 2008; Whyte & Laughlin, 2010). Todos esses mecanismos adaptativos poderiam reduzir a resistência vascular, aprimorar a distribuição do fluxo sanguíneo e restaurar a função endotelial na doença cardiovascular hipertensiva, gerando impactos na dissipação de calor. Também há evidências da existência de neurônios simpato-motores no PVN, os quais enviam projeções concomitantes para eferentes dos sistemas simpático e motor esquelético (Kerman et al.,

2006), o que reforça a importância do recrutamento neuronal no PVN tanto para as adaptações fisiológicas autonômicas, quanto para as respostas motoras na execução do exercício físico.

Já é bem estabelecido que, além do seu envolvimento no controle da pressão arterial e osmolaridade plasmática, a vasopressina central é uma molécula antipirética, sabidamente desencadeadora de hipotermia devido a diminuição da produção de calor associada ao aumento da dissipação deste (Naylor et al., 1986; Steiner et al., 1998; Yang et al., 2009). Em contrapartida, as evidências apontam que a injeção central de ocitocina induz hipertermia (Lipton & Glyn, 1982). Durante a exposição ao frio, a ocitocina aumenta a produção de calor através da estimulação da termogênese sem tremor (Kasahara et al., 2007; 2013, 2015; Lin et al., 1983). Com o intuito de verificar o efeito termorregulatório da vasopressina e da ocitocina atuando centralmente, foi conduzida imunomarcção desses neuropeptídeos no PVN e no SON, principais centros hipotalâmicos secretores desses hormônios (Zimmerman et al., 1984). No presente estudo, constatou-se que os animais SHR Naïf apresentaram menor imunomarcção de ocitocina no PVN em comparação com os animais Wistar Naïf. Isso corrobora com evidências de que a expressão de RNAm para a ocitocina é reduzida no PVN de ratos SHR (Martins et al., 2005). Como verificado através da marcação de c-Fos nos núcleos hipotalâmicos, ocorreu maior imunomarcção de vasopressina no PVN e no SON, além de aumento da marcação de ocitocina somente no SON dos animais Wistar e SHR não treinados submetidos ao exercício progressivo até a fadiga quando comparados ao grupo Naïf correspondente. Portanto, o estímulo agudo provocado pelo exercício progressivo até a fadiga em ratos SHR não treinados possivelmente não foi suficiente para modificar a já baixa expressão de ocitocina no PVN dos animais hipertensos. No entanto, demonstrou-se que em ambas as linhagens a atividade física crônica elevou a expressão de vasopressina e ocitocina no PVN após o exercício progressivo até a fadiga, porém, além de não alterar a ativação celular, o treinamento físico também não modificou a imunomarcção desses peptídeos no

SON. Achados apontam que o treinamento físico afeta de maneira distinta a excitabilidade intrínseca de neurônios autonômicos e secretores do PVN e SON, isto é, resulta em aumento da excitabilidade de neurônios do PVN que se projetam para o tronco cerebral, enquanto diminui a excitabilidade dos neurônios magnocelulares endócrinos do SON (Jackson et al., 2005). Demonstrou-se também que o treinamento físico restabelece a expressão de RNAm para a ocitocina no PVN de ratos SHR (Martins et al., 2005). Tais efeitos do treinamento físico sobre o PVN podem constituir mecanismos para sua maior ativação e secreção hormonal após o exercício progressivo até a fadiga. Tendo em vista que o PVN é um centro integrador de respostas autonômicas e neuroendócrinas (Swanson & Sawchenko 1980), e que este está envolvido na regulação da temperatura corporal interna (Cham & Badoer 2007, Leite et al., 2012), o treinamento físico poderia induzir adaptações nas propriedades intrínsecas de neurônios do PVN hipotalâmicos responsáveis por regular a temperatura corporal interna, contribuindo para o aprimoramento do balanço térmico. Assim, a atividade de neurônios vasopressinérgicos e ocitocinérgicos do PVN estabeleceria uma via de modulação do fluxo simpático para vasos cutâneos, interferindo na dissipação de calor (Santiago et al., 2016). Essa premissa vale particularmente para os neurônios liberadores de vasopressina, já que sua ação como neurotransmissor resulta em aumento da dissipação de calor através da vasodilatação da cauda (Yang et al., 2009). De fato, observou-se que a densidade de neurônios vasopressinérgicos e ocitocinérgicos no PVN correlacionou-se positivamente com o trabalho realizado pelos animais durante o exercício progressivo até a fadiga. Esse achado indica que a maior expressão desses neuropeptídeos está fortemente associada com a melhora do desempenho físico, provavelmente por favorecer a dissipação de calor através da cauda. Baseando-se nesses dados, é possível especular que, de maneira oposta ao ocorrido durante a exposição ao frio (Kasahara et al., 2007; 2013, 2015; Lin et al., 1983), o aumento da expressão de ocitocina no PVN poderia estar relacionado a inibição de mecanismos de

produção de calor em situações de aumento da temperatura corporal interna, como durante a atividade física.

VI. CONCLUSÃO:

Os resultados indicam que o treinamento físico aumenta a atividade neuronal no MnPO, no MPO e no PVN de ratos normotensos e hipertensos submetidos ao exercício progressivo até a fadiga, a qual está relacionada com a melhora do desempenho físico. A atividade hipotalâmica atenuada nos ratos SHR sugere que a hipertensão arterial deprime a adaptação neuronal induzida pelo treinamento físico. Ademais, o exercício crônico aumenta a atividade de neurônios vasopressinérgicos e ocitocinérgicos no PVN de animais normotensos e hipertensos, sendo que tal recrutamento neuronal se mostra associado com a melhora do desempenho físico possivelmente favorecido pela menor taxa de aquecimento corporal observada nos animais treinados.

VII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

AMARAL, S. L.; ZORN, T. M.; MICHELINI, L. C. Exercise training normalizes wall-to-lumen ratio of the gracilis muscle arterioles and reduces pressure in spontaneously hypertensive rats. **J Hypertens**, v. 18, n. 11, p. 1563-72, Nov 2000.

BERNARDO, B. C. et al. Molecular distinction between physiological and pathological cardiac hypertrophy: experimental findings and therapeutic strategies. **Pharmacol Ther**, v. 128, n. 1, p. 191-227, Oct 2010.

BROOKS, G. A.; DONOVAN, C. M.; WHITE, T. P. Estimation of anaerobic energy production and efficiency in rats during exercise. **J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol**, v. 56, n. 2, p. 520-5, Feb 1984.

CAMPOS, H. O. et al. Temperature Control of Hypertensive Rats during Moderate Exercise in Warm Environment. **J Sports Sci Med**, v. 13, n. 3, p. 695-701, Sep 2014.

CAVALLERI, M. T. et al. Afferent signaling drives oxytocinergic preautonomic neurons and mediates training-induced plasticity. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 301, n. 4, p. R958-66, Oct 2011.

CERRI, M. et al. Cutaneous vasodilation elicited by disinhibition of the caudal portion of the rostral ventromedial medulla of the free-behaving rat. **Neuroscience**, v. 165, n. 3, p. 984-95, Feb 3 2010.

CHAM, J. L.; BADOER, E. Exposure to a hot environment can activate spinally projecting and nitrenergic neurones in the lower brainstem in the rat. **Exp Physiol**, v. 92, n. 3, p. 529-40, May 2007

CHAM, J. L. et al. Activation of spinally projecting and nitrenergic neurons in the PVN following heat exposure. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 291, n. 1, p. R91-101, Jul 2006.

- CHEUVRONT, S. N. et al. Mechanisms of aerobic performance impairment with heat stress and dehydration. **J Appl Physiol**, v. 109, n. 6, p. 1989-95, Dec 2010.
- COYLE, E. F. Physical activity as a metabolic stressor. **Am J Clin Nutr**, v. 72, n. 2 Suppl, p. 512S-20S, Aug 2000.
- FERNSTROM, J. D.; FERNSTROM, M. H. Exercise, serum free tryptophan, and central fatigue. **J Nutr**, v. 136, n. 2, p. 553S-559S, Feb 2006. FERNSTROM, M.; TONKONOGLI, M.; SAHLIN, K. Effects of acute and chronic endurance exercise on mitochondrial uncoupling in human skeletal muscle. **J Physiol**, v. 554, n. Pt 3, p. 755-63, Feb 1 2004.
- FOLEY, T. E.; FLESHNER, M. Neuroplasticity of dopamine circuits after exercise: implications for central fatigue. **Neuromolecular Med**, v. 10, n. 2, p. 67-80, 2008.
- FOLKOW, B. et al. Cardiovascular studies in rats with respect to some functional and structural relationships of relevance in hypertension and ordinary aging. **Clin Exp Hypertens A**, v. 6, n. 1-2, p. 587-98, 1984.
- FONSECA, S. F. et al. Hypertension is associated with greater heat exchange during exercise recovery in a hot environment. **Braz J Med Biol Res**, v. 48, n. 12, p. 1122-9, Dec 2015.
- FORSLING, M. L.; INGRAM, D. L.; STANIER, M. W. Effect of changes in hypothalamic temperature on ADH secretion in pigs. **J Physiol**, v. 247, n. 1, p. 49P-50P, May 1975.
- FULLER, A.; CARTER, R. N.; MITCHELL, D. Brain and abdominal temperatures at fatigue in rats exercising in the heat. **J Appl Physiol**, v. 84, n. 3, p. 877-83, Mar 1998.
- GALBO, H. The hormonal response to exercise. **Proc Nutr Soc**, v. 44, n. 2, p. 257-66, Jul 1985. GANDEVIA, S. C. Spinal and supraspinal factors in human muscle fatigue. **Physiol Rev**, v. 81, n. 4, p. 1725-89, Oct 2001. GLEESON, M. Temperature regulation during exercise. **Int J Sports Med**, v. 19 Suppl 2, p. S96-9, Jun 1998.
- GONZALEZ-ALONSO, J.; CRANDALL, C. G.; JOHNSON, J. M. The cardiovascular challenge of exercising in the heat. **J Physiol**, v. 586, n. 1, p. 45-53, Jan 01 2008.

- GONZALEZ-ALONSO, J. et al. Influence of body temperature on the development of fatigue during prolonged exercise in the heat. **J Appl Physiol**, v. 86, n. 3, p. 1032-9, Mar 1999.
- GORDON, C. J. Thermal biology of the laboratory rat. **Physiol Behav**, v. 47, n. 5, p. 963-91, May 1990.
- HARAM, P. M.; KEMI, O. J.; WISLOFF, U. Adaptation of endothelium to exercise training: insights from experimental studies. **Front Biosci**, v. 13, p. 336-46, Jan 01 2008.
- HARRI, M.; KUUSELA, P.; OKSANEN-ROSSI, R. Temperature responses of rats to treadmill exercise, and the effect of thermoregulatory capacity. **Acta Physiol Scand**, v. 115, n. 1, p. 79-84, May 1982.
- HASEGAWA, H. et al. Influence of brain catecholamines on the development of fatigue in exercising rats in the heat. **J Physiol**, v. 586, n. 1, p. 141-9, Jan 1 2008.
- HIGA-TANIGUCHI, K. T.; FELIX, J. V.; MICHELINI, L. C. Brainstem oxytocinergic modulation of heart rate control in rats: effects of hypertension and exercise training. **Exp Physiol**, v. 94, n. 11, p. 1103-13, Nov 2009.
- HINTZY, F. et al. Effect of endurance training on different mechanical efficiency indices during submaximal cycling in subjects unaccustomed to cycling. **Can J Appl Physiol**, v. 30, n. 5, p. 520-8, Oct 2005.
- ICHINOSE, T. K. et al. Enhanced heat loss responses induced by short-term endurance training in exercising women. **Exp Physiol**, v. 94, n. 1, p. 90-102, Jan 2009.
- IOVINO, M. et al. Synaptic inputs of neural afferent pathways to vasopressin- and oxytocin-secreting neurons of supraoptic and paraventricular hypothalamic nuclei. **Endocr Metab Immune Disord Drug Targets**, v. 16, n. 4, p. 276-87, 2016.
- ISHIWATA, T. et al. Functional role of the preoptic area and anterior hypothalamus in thermoregulation in freely moving rats. **Neurosci Lett**, v. 325, n. 3, p. 167-70, Jun 14 2002.

JACKSON, K. et al. Exercise training differentially affects intrinsic excitability of autonomic and neuroendocrine neurons in the hypothalamic paraventricular nucleus. **J Neurophysiol**, v. 94, n. 5, p. 3211-20, Nov 2005.

JOHNSON, J. M. Exercise in a hot environment: the skin circulation. **Scand J Med Sci Sports**, v. 20 Suppl 3, p. 29-39, Oct 2010.

KASAHARA, Y. et al. Oxytocin receptor in the hypothalamus is sufficient to rescue normal thermoregulatory function in male oxytocin receptor knockout mice. **Endocrinology**, v. 154, n. 11, p. 4305-15, Nov 2013.

KASAHARA, Y. et al. Impaired thermoregulatory ability of oxytocin-deficient mice during cold-exposure. **Biosci Biotechnol Biochem**, v. 71, n. 12, p. 3122-6, Dec 2007.

KASAHARA, Y. et al. Role of the Oxytocin Receptor Expressed in the Rostral Medullary Raphe in Thermoregulation During Cold Conditions. **Front Endocrinol (Lausanne)**, v. 6, p. 180, 2015. KAY, D.; MARINO, F. E. Fluid ingestion and exercise hyperthermia: implications for performance, thermoregulation, metabolism and the development of fatigue. **J Sports Sci**, v. 18, n. 2, p. 71-82, Feb 2000.

KAZUYUKI, K. et al. Neuronal networks controlling thermoregulatory effectors. **Prog Brain Res**, v. 115, p. 49-62, 1998.

KELLOGG, D. L., JR. et al. Thermoregulatory reflexes and cutaneous active vasodilation during heat stress in hypertensive humans. **J Appl Physiol (1985)**, v. 85, n. 1, p. 175-80, Jul 1998.

KENNEY, W. L.; KAMON, E.; BUSKIRK, E. R. Effect of mild essential hypertension on control of forearm blood flow during exercise in the heat. **J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol**, v. 56, n. 4, p. 930-5, Apr 1984.

KENNY, G. P. et al. Heat stress in older individuals and patients with common chronic diseases. **CMAJ**, v. 182, n. 10, p. 1053-60, Jul 13 2010.

KERMAN, I. A.; AKIL H.; WATSON S. J. Rostral elements of sympatho-motor circuitry: a virally mediated transsynaptic tracing study. **J Neurosci**, v. 26, n. 13, p. 3423-33, Mar 29 2006.

LACERDA, A. C. et al. Evidence that brain nitric oxide inhibition increases metabolic cost of exercise, reducing running performance in rats. **Neurosci Lett**, v. 393, n. 2-3, p. 260-3, Jan 30 2006.

LACERDA, A. C.; MARUBAYASHI, U.; COIMBRA, C. C. Nitric oxide pathway is an important modulator of heat loss in rats during exercise. **Brain Res Bull**, v. 67, n. 1-2, p. 110-6, Sep 30 2005. LEITE, L. H. et al. Central angiotensin AT(1) receptors are involved in metabolic adjustments in response to graded exercise in rats. **Peptides**, Aug 6 2009. LEITE, L. H. et al. Central angiotensin AT1-receptor blockade affects thermoregulation and running performance in rats. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 291, n. 3, p. R603-7, Sep 2006.

LEITE, L. H. et al. Central fatigue induced by losartan involves brain serotonin and dopamine content. **Med Sci Sports Exerc**, v. 42, n. 8, p. 1469-76, Aug 2010.

LEITE, L. H. et al. Contribution of the paraventricular nucleus in autonomic adjustments to heat stress. **Exp Biol Med (Maywood)**, v. 237, n. 5, p. 570-7, May 1 2012.

LIMA, P. M. et al. Central blockade of nitric oxide transmission impairs exercise-induced neuronal activation in the PVN and reduces physical performance. **Brain Res Bull**, v. 108, p. 80-7, Sep 2014.

LIN, M. T.; HO, L. T.; CHAN, H. K. Effects of oxytocin and (1-penicillamine,4-threonine) oxytocin on thermoregulation in rats. **Neuropharmacology**, v. 22, n. 8, p. 1007-13, Aug 1983.

LUDWIG, M. et al. Intracellular calcium stores regulate activity-dependent neuropeptide release from dendrites. **Nature**, 418, p. 85-9, Jul 2002.

- MARTINS, A. S. et al. Hypertension and exercise training differentially affect oxytocin and oxytocin receptor expression in the brain. **Hypertension**, v. 46, n. 4, p. 1004-9, Oct 2005.
- MCALLEN, R. M. et al. Multiple thermoregulatory effectors with independent central controls. **Eur J Appl Physiol**, v. 109, n. 1, p. 27-33, May 2010.
- MCKINLEY, M. J. et al. The median preoptic nucleus: front and centre for the regulation of body fluid, sodium, temperature, sleep and cardiovascular homeostasis. **Acta Physiol (Oxf)**, v. 214, n. 1, p. 8-32, May 2015.
- MEEUSEN, R. et al. Brain neurotransmitters in fatigue and overtraining. **Appl Physiol Nutr Metab**, v. 32, n. 5, p. 857-64, Oct 2007.
- MORRISON, S. F.; NAKAMURA, K. Central neural pathways for thermoregulation. **Front Biosci (Landmark Ed)**, v. 16, p. 74-104, 2011.
- NAGASHIMA, K. Central mechanisms for thermoregulation in a hot environment. **Ind Health**, v. 44, n. 3, p. 359-67, Jul 2006.
- NAKAMURA, K.; MORRISON, S. F. A thermosensory pathway mediating heat-defense responses. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 107, n. 19, p. 8848-53, May 11 2010.
- NAYLOR, A. M.; RUWE, W. D.; VEALE, W. L. Thermoregulatory actions of centrally-administered vasopressin in the rat. **Neuropharmacology**, v. 25, n. 7, p. 787-94, Jul 1986.
- NIELSEN, B.; NYBO, L. Cerebral changes during exercise in the heat. **Sports Med**, v. 33, n. 1, p. 1-11, 2003.
- NOAKES, T. D. Fluid and electrolyte disturbances in heat illness. **Int J Sports Med**, v. 19 Suppl 2, p. S146-9, Jun 1998.
- NYBO, L. Hyperthermia and fatigue. **J Appl Physiol**, v. 104, n. 3, p. 871-8, Mar 2008.
- OHBUCHI, T.; HAAM, J.; TASKER, J. G. Regulation of neuronal activity in hypothalamic vasopressin neurons. **Interdiscip inf Sci**, v 21, n 3, p. 225-34, Dec 2016.

- OKAMOTO, K.; AOKI, K. Development of a strain of spontaneously hypertensive rats. **Jpn Circ J**, v. 27, p. 282-93, Mar 1963.
- O'LEARY, D. S.; WANG, G. Impaired thermoregulatory cutaneous vasodilation in spontaneously hypertensive rats. **J Appl Physiol (1985)**, v. 77, n. 2, p. 692-6, Aug 1994.
- OSAKA, T. Hypoxia-induced hypothermia mediated by noradrenaline and nitric oxide in the rostromedial preoptic area. **Neuroscience**, v. 179, p. 170-8, Apr 14 2011.
- PRIVIERO, F. et al. Negative chronotropic response to adenosine receptor stimulation in rat right atria after run training. **Clin Exp Pharmacol Physiol**, v. 31, n. 10, p. 741-3, Oct 2004.
- RODRIGUES, L. O. et al. Heat storage rate and acute fatigue in rats. **Braz J Med Biol Res**, v. 36, n. 1, p. 131-5, Jan 2003.
- ROMANOVSKY, A. A. Thermoregulation: some concepts have changed. Functional architecture of the thermoregulatory system. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, 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. **Pharmacol Rev**, v. 61, n. 3, p. 228-61, Sep 2009.
- SANTIAGO, H. P. et al. The improvement of exercise performance by physical training is related to increased hypothalamic neuronal activation. **Clin Exp Pharmacol Physiol**, v. 43, n. 1, p. 116-24, Jan 2016.
- SIMPSON, J. B.; ROUTTENBERG, A. Subfornical organ: site of drinking elicitation by angiotensin II. **Science**, v. 181, n. 4105, p. 1172-5, Sep 21 1973.
- SLADEK, C. D.; JOHNSON, A. K. Integration of thermal and osmotic regulation of water homeostasis: the role of TRPV channels. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 305, n. 7, p. R669-78, Oct 01 2013.

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. **Neurosci Res**, v. 58, n. 4, p. 341-8, Aug 2007.

STEINER, A. A. et al. Role of nitric oxide in systemic vasopressin-induced hypothermia. **Am J Physiol**, v. 275, n. 4 Pt 2, p. R937-41, Oct 1998.

SWANSON, L. W.; SAWCHENKO, P. E. Paraventricular nucleus: a site for the integration of neuroendocrine and autonomic mechanisms. **Neuroendocrinology**, v. 31, n. 6, p. 410-7, Dec 1980.

TAKENO, Y.; KAMIJO, Y. I.; NOSE, H. Thermoregulatory and aerobic changes after endurance training in a hypobaric hypoxic and warm environment. **J Appl Physiol**, v. 91, n. 4, p. 1520-8, Oct 2001.

TANAKA, M.; MCKINLEY, M. J.; MCALLEN, R. M. Preoptic-raphé connections for thermoregulatory vasomotor control. **J Neurosci**, v. 31, n. 13, p. 5078-88, Mar 30 2011.

THOMAS, C. M.; PIERZGA, J. M.; KENNEY, W. L. Aerobic training and cutaneous vasodilation in young and older men. **J Appl Physiol**, v. 86, n. 5, p. 1676-86, May 1999.

THOMPSON, P. D. et al. The acute versus the chronic response to exercise. **Med Sci Sports Exerc**, v. 33, n. 6 Suppl, p. S438-45; discussion S452-3, Jun 2001.

WALTERS, T. J. et al. Exercise in the heat is limited by a critical internal temperature. **J Appl Physiol**, v. 89, n. 2, p. 799-806, Aug 2000.

WEBB, P. The physiology of heat regulation. **Am J Physiol**, v. 268, n. 4 Pt 2, p. R838-50, Apr 1995. WHYTE, J. J.; LAUGHLIN, M. H. The effects of acute and chronic exercise on the vasculature. **Acta Physiol (Oxf)**, v. 199, n. 4, p. 441-50, Aug 2010.

WISLOFF, U. et al. Intensity-controlled treadmill running in rats: VO₂ max and cardiac hypertrophy. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 280, n. 3, p. H1301-10, Mar 2001.

WRIGHT, G.; IAMS, S.; KNECHT, E. Resistance to heat stress in the spontaneously hypertensive rat. **Can J Physiol Pharmacol**, v. 55, n. 5, p. 975-82, Oct 1977.

YAMAZAKI, F.; HAMASAKI, K. Heat acclimation increases skin vasodilation and sweating but not cardiac baroreflex responses in heat-stressed humans. **J Appl Physiol**, v. 95, n. 4, p. 1567-74, Oct 2003.

YANG, Y. L. et al. Physostigmine-induced hypothermic response in rats and its relationship with endogenous arginine vasopressin. **Life Sci**, v. 85, n. 15-16, p. 586-91, Oct 07 2009.

ZHONG, J. et al. Cyclic ADP-Ribose and Heat Regulate Oxytocin Release via CD38 and TRPM2 in the Hypothalamus during Social or Psychological Stress in Mice. **Front Neurosci**, v. 10, p. 304, 2016.

ZIMMERMAN, E. A. et al. Vasopressinergic and oxytocinergic pathways in the central nervous system. **Fed Proc**, v. 43, n. 1, p. 91-6, Jan 1984.