

NILO RESENDE VIANA LIMA

**EFEITOS DA MICROINJEÇÃO DE METILATROPINA NOS NÚCLEOS VENTROMEDIAIS
DO HIPOTÁLAMO (HVM) DE RATOS DURANTE O EXERCÍCIO.**

Tese apresentada ao Departamento
de Fisiologia e Biofísica do Instituto
de Ciências Biológicas da
Universidade Federal de Minas
Gerais para obtenção do título de
Doutor em Ciências Biológicas
Área de concentração: Fisiologia.

Orientadora: Prof. Dr. Umeko Marubayashi

Instituto de Ciências Biológicas - UFMG

Belo Horizonte

2.000

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, Laboratório de Termometabologia do Departamento de Fisiologia da Universidade Federal de São Paulo, Departamento de Bioquímica da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto. Departamento de Fisiologia Médica, Instituto Panum da Universidade de Copenhagem, Dinamarca, na vigência dos auxílios concedidos pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e Pró-Reitoria de Pesquisa da UFMG (PRPq).

Agradecimentos

A Dr Umeko Marubayashi, que durante nossa convivência no mestrado e doutorado, ensinou-me de forma competente e carinhosa, que para fazer pesquisa é necessário disciplina, alegria e um olhar admirado sobre os resultados obtidos. Ensinou-me também que é muito importante ter um cuidado especial com os alunos iniciantes. Expresso aqui minha gratidão. Agradeço aos professores Dr. Cândido Celso Coimbra, Dr. Adelina Martha dos Reis, Dr. Leida Maria Botion, Dr. Jacqueline Luz, Dr. Luiz Oswaldo Carneiro Rodrigues e Dr. Mauro Antonio Griggio, pela importante contribuição, cada um a seu modo, para a minha formação acadêmica.

Índice

RESUMO.....	6
SUMMARY	8
INTRODUÇÃO	10
MATERIAIS E MÉTODOS	27
Animais	28
Implante de cateter no átrio direito	28
Implante de cânulas nos núcleos ventromediais hipotalâmico	28
Implante de cateter na artéria aorta	29
Implante do sensor para temperatura	29
Seleção dos animais	30
Adaptação à esteira rolante.....	30
Microinjeção nos núcleos ventromediais hipotalâmicos	31
Medida do consumo máximo de oxigênio	31
Medida do tempo total de exercício.....	32
Colheita de sangue para medida de glicose e de lactato	32
Colheita de sangue e análise de catecolaminas	32
Colheita de sangue para a gasometria.....	33
Medida dos parâmetros cardiovasculares	33
Medida da temperatura corporal	34
Verificação dos implantes das cânulas nos núcleos ventromediais hipotalâmicos. ..	34
Análise Estatística	36
RESULTADOS.....	37
Efeito da microinjeção de metilatropina nos núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre o VO_{2max}	38
Efeito da microinjeção de metilatropina nos núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre a velocidade máxima.....	40
Efeito da microinjeção de metilatropina nos núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre o tempo total de exercício a 80% do VO_{2max}	42
Efeito da microinjeção de metilatropina nos núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre o gasto calórico.	44
Efeito da microinjeção de metilatropina nos núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre o bicarbonato sangüíneo.	46
Efeito da microinjeção de metilatropina nos núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre o pH sangüíneo.	48
Efeito da microinjeção de metilatropina nos núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre a pressão parcial de CO_2 sangüínea.....	50

Efeito da microinjeção de metilatropina nos núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre a concentração sanguínea de CO ₂	52
Efeito da microinjeção de metilatropina nos núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre os níveis plasmáticos de noradrenalina.....	54
Efeito da microinjeção de metilatropina nos núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre os níveis plasmáticos de adrenalina.....	56
Efeito da microinjeção de metilatropina nos núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre a pressão arterial média.	58
Efeito da microinjeção de metilatropina nos núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre a pressão diastólica.....	60
Efeito da microinjeção de metilatropina nos núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre a pressão sistólica.....	62
Efeito da microinjeção de metilatropina nos núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre a frequência cardíaca.....	64
Efeito da microinjeção de metilatropina nos núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre a temperatura corporal.	66
Efeito da microinjeção de metilatropina nos núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre lactato plasmático.....	70
Efeito da microinjeção de metilatropina nos núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre glicose plasmática.	72
DISCUSSÃO.....	75
CONCLUSÃO.....	96
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	99

O objetivo deste estudo foi verificar os efeitos da injeção de metilatropina nos núcleos ventromediais do hipotálamo (NVMH) sobre o metabolismo, o sistema cardiovascular e a termorregulação de ratos em exercício.

Foram utilizados ratos machos Wistar (250-300g) portando cânulas bilaterais no HVM para a microinjeção de 0,2 μ L de metilatropina (5×10^{-9} mol) ou de NaCl (0,15 M). Os animais receberam cânulas no átrio direito, via veia jugular, para colheita de amostras de sangue e outra, na aorta para registro das alterações cardiovasculares. Receberam também implante intraperitoneal de um termossensor para medida da temperatura corporal.

O exercício constou de uma corrida em uma esteira rolante a 80% do VO_{2max} , previamente medido, até a exaustão. Nossos resultados mostraram que o bloqueio colinérgico dos núcleos ventromediais: reduziu em 50% a capacidade máxima de exercício em ratos não treinados, mostrando que receptores colinérgicos dos núcleos ventromediais hipotalâmico modulam a atividade física de ratos correndo a 80% do VO_{2max} ; 2- o bloqueio colinérgico dos núcleos ventromediais antecipou em 50% do tempo máximo de exercício o aumento das concentrações de glicose e de lactato; 3- o bloqueio colinérgico dos núcleos ventromediais aumentou os valores da pressão arterial, e da frequência cardíaca; 4- o bloqueio colinérgico dos núcleos ventromediais atenuou o aumento da temperatura corporal induzido pelo exercício. 5- As terminações colinérgicas do núcleo ventromedial participam da modulação da atividade simpática durante o exercício.

Summary

The aim of present study was evaluate the participation of cholinergic receptors of hypothalamic ventromedial nuclei (VMH) in the adjustments of metabolism, cardiovascular system and body temperature in untrained exercising rats until fatigue. Male Wistar rats (250-300g, body weight) were anesthetized with thionembutal ($30 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, b.wt., i.p.) and bilateral brain cannula was implanted for $0.2 \mu\text{L}$ of methylatropine ($5 \times 10^{-9} \text{ mol}$) or NaCl (0.15 M) injection into the VMH. The animals were fitted with chronic jugular catheters for blood sampling and cannula into the aorta for blood pressure measurements. Body temperature was measured with intraperitoneal radiotelemeters. Exercise was performed on a motor-driven treadmill until exhaustion and the intensity of exercise was 80% of $\text{VO}_{2\text{max}}$, determined previously. Our results show that the cholinergic blockade of hypothalamic ventromedial nuclei of untrained rats reduced in 50% the maximal capacity for exercise indicating that these neurons modulate physical performance of rats running at 80 % of $\text{VO}_{2\text{max}}$. Furthermore, the cholinergic blockade of VMH anticipated in 50% the exercise induced increase of glucose and lactate levels and increased the blood pressure and heart rate values. In addition, the blockade of VMH with methylatropine attenuated the exercise-induced the rate increase in body temperature. Our data suggest that cholinergic receptors of ventromedial nuclei participate in the modulation of peripheral sympathetic activity during exercise.

A atividade física promove adaptações hormonais, metabólicas e cardiovasculares aumentando o gasto energético sem comprometer a integridade do organismo. Estas adaptações durante o exercício físico são basicamente determinadas pela intensidade e duração do mesmo, pelas condições do ambiente e pelo estado nutricional do animal. Os mecanismos envolvidos nesta adaptação são complexos e ainda não estão bem esclarecidos. Admite-se que uma parte do mecanismo esteja sob controle direto do sistema nervoso central (SNC).

Dentre os ajustes durante o exercício ocorrem o aumento do débito cardíaco e da pressão arterial, a manutenção da temperatura corporal dentro de uma faixa estreita compatível com a vida e um fornecimento adequado de substratos energéticos, como a glicose. O controle neural da produção hepática de glicose, tanto durante o exercício quanto em outras situações de estresse, envolve a inervação simpática do fígado, a liberação de adrenalina pela medula adrenal e a inervação do pâncreas que modula a liberação de glucagon (Steffens e cols. 1988; Shimazu 1983; 1971).

Ricardo (1983) descreveu as conexões neurais de várias áreas hipotalâmicas com o núcleo motor dos nervos pré-ganglionares do sistema nervoso autônomo. Este estudo forneceu bases anatômicas de que a regulação do metabolismo intermediário pode ser realizada por mecanismos neuroendócrinos através de conexões entre o hipotálamo e os nervos autonômicos.

Evidências experimentais utilizando técnicas de lesões eletrolíticas ou de estimulações químicas em várias regiões do SNC e pela análise de alterações nas respostas periféricas mostraram que o hipotálamo controla o metabolismo

da glicose e as regiões envolvidas neste controle são: a área preóptica (Ferreira e cols. 1999; Castro e cols. 1997; Coimbra & Migliorini 1988; 1986), o núcleo ventromedial (Brito e cols. 1993; Scheurink e cols. 1988; Vissing e cols. 1989b), o hipotálamo lateral (Scheurink e cols 1990; Scheurink e cols. 1988) e o núcleo paraventricular (Ionescu e cols. 1989; Scheurink e cols 1990).

A regulação hipotalâmica da produção hepática de glicose e da liberação de catecolaminas pela medula adrenal durante o exercício físico, ou à exposição ao frio ou a citoglicopenia é mediada pelas inervações simpática e parassimpática. Diversos estudos em animais anestesiados ou em repouso têm demonstrado a participação do sistema colinérgico central no controle do metabolismo intermediário. Estes estudos mostraram que a administração de carbacol, um agonista colinérgico, no terceiro ventrículo (Iguchi e cols. 1991a) ou no ventrículo cerebral lateral (Migliorini e cols. 1989; Korner & Ramu 1976) ou de neostigmina, um anticolinesterásico, no terceiro ventrículo (Iguchi e cols 1990; 1986) produziram um aumento rápido na concentração plasmática de glicose. O efeito destas drogas sobre a produção hepática de glicose e a secreção de catecolaminas era suprimido tanto pela co-administração intracerebroventricular (*icv*) de atropina (Iguchi e cols. 1990; 1986; Korner & Ramu 1976) como pela adrenodemedulação prévia (Brito e cols. 1993; Iguchi e cols. 1990; 1986; Migliorini e cols. 1989). Estes resultados sugerem que a ativação dos neurônios colinérgicos no SNC é mediada por receptores muscarínicos que levam ao aumento do tônus simpático do fígado e da secreção de catecolaminas pela medula adrenal.

A presença de glicorreceptores no fígado é um componente importante do sistema neural do controle de produção hepática de glicose. Nijima (1985;

1982) propôs a existência de sensores hepáticos para a glicose que monitorariam a concentração de glicose no sangue portal. Donovan e cols (1991) demonstraram em cães que os glicorreceptores hepáticos parecem ser fundamentais para a resposta simpático-adrenérgica a hipoglicemia. Segundo estes autores, os glicorreceptores seriam estimulados com a redução dos níveis plasmáticos de glicose na veia porta-hepática e enviariam aferências para a região hipotalâmica promovendo respostas eferentes simpáticas e aumento da secreção de catecolaminas. Embora Donovane cols (1991) tenham demonstrado que os glicorreceptores na região hepatportal possam ativar o sistema simpático adrenal durante a hipoglicemia, o papel do SNC parece ser dominante para a detecção e a integração dos sinais hipoglicêmicos. Borg e cols. (1997) demonstraram em ratos que o núcleo ventromedial atua como glicossensor e estimula as secreções de catecolaminas e de glucagon e a ablação deste núcleo abole estas respostas (Borg e cols. 1995). Além disso, Jackson e cols (1997) mostraram em cães que o bloqueio da transmissão vagal hepática por refriamento, antes ou durante a hipoglicemia induzida pela insulina, não modificou a resposta contrarreguladora sugerindo que a aferência vagal do fígado não participa desta resposta.

A exposição de animais de laboratório a atividades estressantes como o exercício físico leva à clássica resposta que compreende um aumento das atividades do sistema simpático-adrenal e do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal. Segundo Galbo e cols (1975), a concentração plasmática das catecolaminas aumenta numa proporção direta com a intensidade e a duração do exercício. A adrenalina tem importante participação na regulação da produção hepática de glicose em ratos durante o exercício (Vissing e cols., 1989a; Sonne e cols

1985) e a manutenção da concentração de glicose é de fundamental importância durante o mesmo (Donovan & Sumida 1997; Galbo 1992; 1983).

O aumento da atividade muscular implica em um aumento na produção hepática de glicose resultando em uma maior intensidade dos processos de glicogenólise (Winder, 1985; Wahren e cols 1975) e da gliconeogênese em exercícios prolongados (Donovan & Sumida 1997). Evidências experimentais também mostraram que os hormônios pancreáticos estão envolvidos na produção hepática de glicose durante o exercício (Wasserman e cols. 1989a; 1989b; Vranic e col 1976). Em cães, a diminuição da secreção de insulina (Wasserman e cols 1989a) e um aumento da concentração plasmática de glucagon (Wasserman e cols 1989b) são importantes para a produção hepática de glicose durante o exercício. Segundo estes autores, a glicogenólise seria estimulada pelo glucagon e durante os exercícios prolongados haveria um aumento de precursores da gliconeogênese favorecendo este processo pelo fígado como resultado do aumento da concentração de glucagon no sangue.

Por sua vez, estudos envolvendo animais com desnervação hepática não forneceram evidências diretas sobre o papel da inervação simpática do fígado na mobilização de glicose (Wasserman e cols 1990; Sonne e cols 1985). Contudo, os estudos de Van Dijk e cols (1994a) utilizando ratos com desnervação hepática e submetidos ao exercício mostraram que o glucagon e a adrenalina são fatores predominantes como indutores da resposta glicêmica. De acordo com estes autores, o papel dos nervos simpáticos do fígado como mecanismo de contrarregulação glicêmica só se torna evidente quando há bloqueio da secreção de glucagon pela somatostatina.

Por outro lado, Sonne e cols (1985) demonstraram que a remoção das adrenais resultou em menor produção hepática de glicose em ratos durante a corrida, indicando a importância do sistema simpático-adrenal na manutenção da glicemia. Entretanto, Carlson e cols. (1985) mostraram em ratos que a adrenodemedulação não modificava a taxa de glicogenólise hepática durante o exercício e os autores concluíram que, na ausência da medula adrenal, o aumento da produção hepática de glicose seria decorrente da ativação do glucagon ou da estimulação do nervo simpático do fígado. De acordo com estes autores, os órgãos alvos para a adrenalina liberada pela medula adrenal durante o exercício submáximo seriam a célula beta do pâncreas e o músculo esquelético e, não o fígado. Entretanto, Marker e cols (1991) demonstraram em humanos que a ativação simpático-adrenal é crítica para prevenir a hipoglicemia durante o exercício quando as secreções de insulina e de glucagon estiverem bloqueadas.

Entretanto, a participação do sistema simpático-adrenal na regulação do metabolismo de carboidratos durante o exercício não está bem esclarecida principalmente com respeito à glicogenólise muscular. Dois potentes estímulos para a glicogenólise são conhecidos: a contração muscular, durante a qual a liberação de cálcio do retículo sarcoplasmático leva a um aumento da atividade da fosforilase A pela ativação da fosforilase quinase B (Fischer e cols 1971) e o aumento da concentração de adrenalina que promove o aumento do cAMP e este ativa a reação em cascata que leva a conversão da fosforilase B para a fosforilase A (Fischer e cols 1971). Porém a relação entre estes dois mecanismos: influxo de cálcio e a concentração de adrenalina ainda não estão bem esclarecidos.

Estudos de Richter e cols. (1981) demonstraram em ratos que durante o exercício os hormônios da medula adrenal são mais importantes para a ativação da glicogenólise muscular do que a atividade nervosa simpática. Seus resultados revelaram também que após a adrenalectomia havia uma redução na glicogenólise muscular durante o exercício e era acompanhada de diminuição acentuada na velocidade de mobilização de glicose a partir de glicogênio hepático. Posteriormente, Richter e cols (1982a) sugeriram que durante o exercício a adrenalina e as contrações musculares exerceriam um duplo controle sobre a glicogenólise muscular e a importância dos dois estímulos parece variar com o tipo de fibra muscular, duração e a intensidade da atividade muscular. Além disso, Issekutz (1984) demonstrou que a taxa de glicogenólise nos músculos em atividade está sob duplo controle sendo um metabólico intracelular atuando no início do exercício e o outro, hormonal envolvendo a adrenalina e os receptores β -adrenérgicos musculares.

A redução do glicogênio intramuscular provocada pelo exercício promove um aumento na taxa de transporte de glicose para os músculos além de aumentar a capacidade de conversão de glicose em glicogênio e esta resposta é devida ao aumento da sensibilidade à insulina (Richter e cols 1982b; Fell e cols. 1982). Richter e cols (1982b) sugeriram ainda que o aumento da sensibilidade à insulina ocorre predominantemente nas fibras musculares que apresentaram glicogenólise durante o exercício.

Por outro lado, Lima e cols. (1998) verificaram em ratos que durante o exercício os ajustes metabólicos e os motores poderiam estar sendo mediados por neurônios colinérgicos situados entre as aferências dos músculos e o SNC. Este estudo também confirmou que as glândulas adrenais são importantes no

ajuste do mecanismo de feedback que regula a mobilização de substrato energético durante o exercício.

Outra estrutura hipotalâmica envolvida no controle metabólico é o núcleo ventromedial (NVMH) (Brito e cols. 1993; Frohman e cols. 1974; Barkai & Allweiss 1972) e existem dados anatômicos mostrando conexões entre o referido núcleo e o sistema nervoso simpático (Luiten e cols. 1987).

Em ratos em repouso, a estimulação química do NVMH com catecolaminas ou com carbacol ativa a glicogenólise hepática via inervação simpática esplâncnica (Matsushita & Shimazu 1980). Shimazu (1981; 1978) e Shimazu & Amakawa (1975) mostraram que a estimulação elétrica do nervo esplâncnico ou do próprio núcleo aumenta a produção de glicose pela ativação da fosforilase hepática. Além disso, a estimulação elétrica deste nervo também produz um aumento da gliconeogênese pela ativação da enzima fosfoenolpiruvato carboxiquinase e diminuição da piruvato quinase. Iguchi e cols. (1991b) demonstraram que a administração de atropina no NVMH suprime a hiperglicemia induzida pela neostigmina injetada no hipocampo sugerindo assim, que a via para esta resposta envolve, pelo menos em parte, os neurônios colinérgicos muscarínicos do NVMH. Estes autores sugeriram que a atividade glicorreguladora hipocampal evocada pela neostigmina seria transmitida para os órgãos periféricos via hipotálamo ventromedial. A participação do núcleo ventromedial do hipotálamo na regulação da glicemia foi confirmada pelos experimentos de Honmura e cols. (1992). Estes autores injetaram neostigmina em várias regiões do SNC de ratos em jejum de 24 horas e anestesiados e observaram que a estimulação do NVMH promovia aumento dos níveis plasmáticos de catecolaminas e de glicose.

Posteriormente, foi mostrado em ratos alimentados e em repouso que a produção de glicose é aumentada pela injeção de agentes colinérgicos no núcleo ventromedial (Brito e cols. 1993). Estes estudos sugeriram ainda que a estimulação central com agentes colinérgicos produziu uma descarga simpática aumentando a secreção de adrenalina. Os autores observaram ainda um aumento da gliconeogênese demonstrada pela incorporação de ^{14}C do bicarbonato na glicose plasmática.

Por outro lado, existem evidências mostrando o papel do NVMH no controle do metabolismo intermediário de animais em exercício (Scheurink e cols 1990; Vissing e cols. 1988a; 1989a).

Scheurink e cols (1988) demonstraram que os adrenoceptores centrais (NVMH e LHA) e os periféricos estão envolvidos no metabolismo energético e que as concentrações plasmáticas de glicose, de ácido graxo livre e de insulina podem ser independentemente reguladas durante o exercício pelos núcleos ventromediais e área hipotalâmica lateral. Por outro lado, Vissing e cols. (1989b) mostraram que a anestesia do NVMH promoveu uma diminuição dos níveis de catecolaminas e da produção hepática de glicose em ratos submetidos a uma corrida durante 20 minutos sugerindo a participação deste núcleo na regulação do metabolismo durante o exercício. Foi demonstrado também que a liberação de adrenalina e de nor adrenalina durante o exercício pode ser dissociada pelo bloqueio da transmissão α ou β -adrenérgico no NVMH, sendo que a administração de antagonista α -adrenérgico leva a uma diminuição dos níveis plasmáticos de adrenalina enquanto que, a do β -adrenérgico a aumenta e atenua a de noradrenalina (Scheurink e cols 1990).

Estudos neurofisiológicos e neurofarmacológicos mostraram que o hipotálamo é o principal centro controlador da termorregulação. A regulação da temperatura corporal é feita pelo controle do ganho e da perda de calor entre o corpo e o ambiente por meio de mecanismos neuroendócrinos e/ou comportamentais. Os homeotermos regulam suas temperaturas por meio de processos autonômicos, bem como, comportamentais. No processo autonômico, informações provenientes de receptores cutâneos e da temperatura corporal interna são integradas na área preóptica do hipotálamo (APO) que, por sua vez ativam respostas termo efectoras apropriadas (Kanosue e cols 1998). Por outro lado, o mecanismo central da termorregulação comportamental não está bem esclarecido. Lipton & Clark (1986) mostraram que a lesão da área preóptica não impede a termorregulação comportamental e segundo Satinoff & Shan (1971), o hipotálamo lateral parece ser mais importante para este tipo de controle.

No rato, durante a termorregulação a dissipação de calor é feita principalmente pelas áreas descobertas de seu corpo e o animal não utiliza o controle vasomotor central da circulação cutânea das áreas cobertas de pêlos (Rand e cols. 1965). Segundo Thompson & Stevenson (1965) nos ratos, os pés e as porções distais de suas patas são bem vascularizadas e quando o aumento da temperatura colônica atinge um valor crítico (39,3° C) ocorre vasodilatação e temperatura permanece neste nível enquanto durar o exercício. Esta temperatura crítica é alterada pelas lesões bilaterais das áreas preóptica e hipotalâmica anterior (Thompson & Stevenson 1965).

As áreas preóptica/hipotálamo anterior (POAH) têm sido apontada como uma importante região do SNC na regulação da temperatura corporal (Ferreira

e cols 1999; Santos e cols 1990; Fhelner & Gordon, 1985). Vários estudos em ratos mostram que os agonistas colinérgicos estimulam a produção e/ou conservação de calor, enquanto outros indicam que a liberação de acetilcolina possa estar envolvida na dissipação de calor. Kirkpatrick & Lomax (1967) mostraram em ratos anestesiados que a microinjeção de atropina no hipotálamo promoveu aumento na temperatura corporal enquanto que os dados de Beckman & Carlisle (1969) demonstraram que a microinjeção bilateral de acetilcolina na área preóptica ou no hipotálamo anterior resultou na diminuição da temperatura hipotalâmica local acompanhada de um decréscimo na produção de calor periférico. Posteriormente, Meeter (1971) demonstrou em ratos que o carbacol intracerebroventricular promoveu hipotermia devido ao deslocamento do “*set point*” do termostato hipotalâmico para um nível mais baixo e reflexamente uma vasodilatação e/ou redução da produção de calor por diminuição do metabolismo. Por outro lado, a administração de fisostigmina na POAH de ratos desencadeou uma resposta hipotérmica mais acentuada à baixa temperatura ambiental (15º C) (Fehlner & Gordon 1985) mostrando o efeito da temperatura ambiente nas respostas termorreguladoras.

Estudos neuroanatômicos mostraram a presença de conexões eferentes da APO para o núcleo ventromedial (Krieger e cols., 1979; Conrad & Pfaff, 1976a; 1976b). Foi demonstrado em ratos que a estimulação elétrica do hipotálamo posterior e do núcleo ventromedial pode ativar os mecanismos efetores da termogênese (Thornhill & Halvorson 1994). Os autores demonstraram ainda que o hipotálamo posterior ativa a termogênese acompanhada de tremor, enquanto que, a estimulação do NVMH promoveu um aumento da temperatura do tecido adiposo marrom intraescupular e não

associada ao tremor. Posteriormente, Thornhill e cols. (1994) demonstraram que a termogênese induzida pela estimulação da área preóptica medial requer a integridade funcional do NVMH, pois a injeção prévia de lidocaina no referido núcleo bloqueou esta resposta.

Vários estudos têm determinado os efeitos de exercícios forçados sobre a termorregulação utilizando-se choque elétrico ou corridas em esteira rolante e observaram que existe uma relação direta entre a intensidade de exercício e o aumento da temperatura corporal durante o exercício. Por outro lado, sabe-se que a temperatura ambiente afeta as respostas termorreguladoras durante o exercício (Fehlner & Gordon, 1985; Shellock & Rubin 1984; Harri e cols 1982) e o aumento da temperatura colônica, para uma dada taxa metabólica, é proporcional ao aumento da temperatura ambiente. Shellock & Rubin (1984) notaram que os ratos apresentam dificuldades para perder calor durante o exercício forçado em altas temperaturas ambientais devido à incapacidade de se lamberem e com isso aumentar a perda de calor por evaporação da saliva. Por outro lado, Harri e cols (1982) mostraram em ratos que o aumento na temperatura central durante o exercício é proporcional à intensidade do trabalho e o aumento na produção de calor é compensado pela maior perda de calor. Para manter o balanço térmico, o calor produzido pelos músculos em exercício deve ser contrabalançado pela perda de calor, caso contrário, resultará em gasto energético. Além disso, a hipertermia induzida pelo exercício reduz a atividade física em mamíferos, incluindo roedores (Fuller e cols. 1998; Nielsen e cols., 1993). Fuller e cols (1998) mostraram em ratos que existe um limite de temperatura interna a partir da qual os animais não mais continuam o exercício. Foi levantada a hipótese de que a hipertermia antecipa

a fadiga protegendo o organismo contra o choque térmico. De acordo com Nielsen e cols. (1990) a hipertermia promoveria, via SNC, uma redução da motivação para a atividade física.

O início do exercício é caracterizado por um aumento na frequência cardíaca, débito cardíaco, pressão arterial média e atividade do nervo simpático (Mitchell 1990). Além disso, adaptações cardiovasculares durante o exercício dependem da intensidade, da duração e do tipo de exercício (Rowel & O'Leary 1990). Entretanto, Vissing e cols.(1989a) foram os primeiros a mostrar que as respostas hormonais, metabólicas e as cardiovasculares induzidas pelo exercício podem ser evocadas em paralelo com a locomoção através da ativação de centros motores localizados no hipotálamo posterior.

As alterações na atividade dos nervos autonômicos no sistema cardiovascular são devidas aos sinais oriundos numa área cerebral chamado comando central, que ativa o córtex motor e em paralelo, as áreas de controle cardiovascular bulbar. O comando central inicia a resposta cardiovascular e determina o grau de atividade dos eferentes do sistema nervoso simpático e parassimpático ao coração e aos vasos sanguíneos (Mitchell 1990). Por outro lado, o comando central é modulado pelas informações originadas nos mecano e/ou quimiorreceptores localizados no coração, nos músculos ativos e nos vasos sanguíneos (Mitchell 1990).

Para esclarecer o papel do sistema colinérgico na modulação da pressão arterial e da frequência cardíaca foram utilizados vários modelos experimentais como: animais geneticamente hipertensos, ou com um ou dois clips na artéria renal, coarctação da aorta, etc. No entanto não há, até o presente momento, dados sobre uma resposta cardiovascular específica após

uma estimulação colinérgica central e foram registrados desde aumentos ou diminuições da pressão arterial e da frequência cardíaca. A diversidade das respostas deve-se a uma série de fatores, tais como: a seletividade da droga utilizada, a área estimulada, espécie animal e o grau (nível) da anestesia.

Existem evidências que a administração de agonistas colinérgicos diretamente ou próximo a áreas hipotalâmicas promovem alterações cardiovasculares indicando que estas drogas podem ativar estruturas próximas à parede dos ventrículos cerebrais. Foi demonstrado que a administração icv de fisostigmina (Caputi e cols. 1980) ou de carbacol (Hoffman, 1979) em ratos conscientes promove uma resposta pressora. A administração icv de acetilcolina em ratos conscientes ou em anestesiados promoveu um aumento da pressão arterial e esta foi abolida pela transecção da medula espinhal ou pela atropina injetada pela mesma via, indicando que a resposta pressora era mediada por receptores muscarínicos centrais (Krsić & Djurković, 1978). Os autores concluíram ainda que estes receptores centrais ativaram os receptores muscarínicos dos gânglios simpáticos e da medula adrenal indicando um aumento do tônus simpático e participação do sistema simpático-adrenal.

Os dados de Brezenoff (1972) mostraram que a microinjeção de carbacol no núcleo ventromedial do hipotálamo de ratos anestesiados com uretana aumentou tanto a pressão arterial quanto a frequência cardíaca indicando que este núcleo hipotalâmico contém mecanismos colinérgicos capazes de alterar estes parâmetros cardiovasculares. Posteriormente, Brezenoff e cols (1988) mostraram que a metilatropina é mais potente do que a atropina em bloquear as respostas centrais e as periféricas resultantes da estimulação de receptores M_2 .

Entretanto, quando ratos normotensos conscientes são tratados com inibidores da colinesterase administrados central ou periféricamente observa-se invariavelmente uma resposta hipertensora e esta parece envolver a participação dos receptores muscarínicos centrais (Buscafusco 1996; Philippu 1981).

Os resultados de vários estudos demonstraram que a depleção de catecolaminas ou o bloqueio de receptores α -adrenérgicos podem inibir a resposta pressora causada pela estimulação colinérgica (Brezenoff & Giuliano 1982; Philippu 1981). Valladão e cols (1990) demonstraram a existência de uma interação entre as vias colinérgicas e adrenérgicas do núcleo ventromedial sobre a regulação da pressão arterial e da frequência cardíaca em ratos normotensos conscientes e em repouso e que os adrenoceptores alfa 1 e beta deste núcleo estariam envolvidos nestas respostas.

A frequência cardíaca também pode ser um indicativo da severidade do exercício, mas ela não pode ser utilizada como um único critério para a intensidade de exercício pelo menos, em humanos (Rowell & O'Leary 1990). A frequência cardíaca aumenta durante o exercício devido a uma diminuição da atividade parassimpática e um aumento da simpática ao coração, sendo que os mecanismos responsáveis por estas alterações ainda são desconhecidos. A alteração da frequência cardíaca durante o exercício pode ser, em parte devida a ativação do metaborreflexo muscular, uma resposta pressora desencadeada pelo acúmulo de metabólitos no interior do músculo em atividade (Rowell & O'Leary, 1990). Estudos recentes indicam que o comando central promove aumento da frequência cardíaca no início do exercício diminuindo a atividade parassimpática enquanto que a atividade simpática tanto para o coração

quanto aos vasos sanguíneos pode aumentar dependendo da intensidade e do tipo de exercício (Rowell & O'Leary, 1990).

Entretanto, até o momento, não encontramos evidências experimentais envolvendo o sistema colinérgico central em uma região específica do hipotálamo, tendo como modelo, o exercício físico que reconhecidamente provoca aumento fisiológico tanto da pressão arterial quanto da frequência cardíaca.

Lima e cols (1998) mostraram que o bloqueio colinérgico com injeção *icv* de atropina em ratos não treinados reduziu o tempo máximo de exercício sugerindo que estes neurônios exerceriam um papel importante na regulação da capacidade máxima de exercício. Entretanto nos animais adrenalectomizados tratados com salina *icv* não se observaram alterações no tempo de exercício indicando que as ausências das catecolaminas adrenais não interferiram na capacidade máxima de exercício naquela intensidade de trabalho. Este resultado foi confirmado por Rodrigues (2000); Gomes-Filho (2000); Almeida-Silva (1997) que mostraram que a ausência das medulas adrenais não modificou a capacidade do animal em realizar exercícios em intensidade moderada. Lima e cols (1998) observaram que a injeção *icv* de atropina nos animais adrenalectomizados, promoveu uma drástica redução no tempo de exercício e os autores concluíram que durante o exercício há aumento da atividade simpático-adrenal e da produção de catecolaminas modulada pelos neurônios colinérgicos hipotalâmicos. Contudo, neste estudo não foi medida a concentração de catecolaminas das adrenais, não permitindo assim, a evidência direta da interferência do bloqueio colinérgico hipotalâmico na produção de catecolaminas.

Por sua vez, vários trabalhos que investigaram a participação do sistema nervoso central no controle hormonal e metabólico durante o exercício (Lima e cols 1998; Coker e cols 1997; Van Dijk e cols 1994b; Scheurink e cols., 1990; Vissing e cols 1988a; Sonne & Galbo 1980) não consideraram a capacidade aeróbia relativa (% do VO_{2max}) ou não avaliaram se o procedimento experimental levaria a uma modificação na capacidade máxima de realizar o exercício. Este procedimento experimental é muito importante, pois, ao fixarmos em valores absolutos os intervalos das colheitas de amostras a cada 5 minutos poderemos estar medindo variáveis metabólicas, cardiovasculares ou hormonais em situações bem distintas para cada animal, pois, alguns poderiam estar chegando a exaustão enquanto que outros ainda conseguiriam permanecer correndo.

Diante dos resultados obtidos com o tratamento icv de atropina, nosso objetivo foi investigar a região periventricular hipotalâmica que possa estar envolvida no exercício. O núcleo ventromedial é uma das regiões periventriculares do hipotálamo envolvido na indução da corrida (Narita e cols 1994;1993; Yokawa e cols 1989) e nos ajustes metabólicos durante o exercício (Balkan e cols 1992; Scheurink e cols 1990; 1988).

Os principais objetivos do nosso trabalho foram verificar se:

1- os neurônios do NVMH estariam envolvidos no controle da capacidade máxima de exercício;

2- o bloqueio colinérgico do NVMH poderia interferir nos ajustes do metabolismo de carboidratos, da atividade simpático-adrenal, do sistema cardiovascular e da temperatura corporal durante o exercício.

Materiais e Métodos

Animais

Foram utilizados sete grupos de ratos Wistar adultos pesando entre 280 e 300g, provenientes do Centro de Bioterismo do Instituto de Ciências Biológicas (CEBIO) da Universidade Federal de Minas Gerais. Após as cirurgias, os animais foram mantidos em gaiolas individuais em uma sala com a temperatura constante de 23 ± 2 °C, sob ciclo de 14-10 h luz-escuro, com livre acesso à ração granulada e água *ad libitum*.

Implante de cateter no átrio direito

Os animais foram anestesiados com tionembural (Abott), (30 mg.kg^{-1} , ip) e o cateter silastic (0,28 mm de diâmetro interno e 0,61 mm de diâmetro externo) foi implantado no átrio direito, via veia jugular (Harms & Ojeda 1974). O cateter foi preenchido com solução de polivinil pirrolidona (PVP K25) (Brown & Hedge 1972) e lavado a cada 2-3 dias com salina e novamente preenchido com PVP para impedir a sua obstrução. Ao término das cirurgias os animais receberam uma única dose de penicilina procaína (20.000U) via intramuscular.

Implante de cânulas nos núcleos ventromediais hipotalâmico

Após o implante do cateter atrial, os animais foram adaptados ao estereotáxico (David Kopf-900, para pequenos animais) e, após depilação e assepsia da porção superior da cabeça foi feita uma incisão longitudinal da pele e do tecido subcutâneo, bem como, o afastamento do periósteo. As

coordenadas estereotáticas utilizadas para implantar as cânulas nos núcleos ventromediais hipotalâmicos foram: antero-posterior 2,5 mm posterior ao bregma; látero-lateral 0,6 mm a partir da linha mediana e vertical 9,0 mm a partir da dura mater (Paxinos & Watson 1995). A craniotomia para implantação das cânulas (33G e 20 mm de comprimento) foi feita com auxílio de uma broca odontológica. O cateter para o átrio direito e as cânulas cerebrais foram apoiadas com auxílio de parafusos de relojoeiro e fixadas na calota craniana com acrílico odontológico autopolimerizante. As cânulas cerebrais foram protegidas com um mandril de aço inoxidável.

Implante de cateter na artéria aorta

Para o registro da pressão arterial foi implantada uma cânula na aorta descendente, via carótida esquerda. A cânula utilizada foi confeccionada com tubos de polietileno de diâmetros (PE50 e PE10) e comprimentos diferentes (10 e 4 cm) soldados por aquecimento. O cateter foi preenchido com solução salina e uma de suas extremidades ocluída com um pino de aço. Após dissecar a artéria carótida, o cateter foi introduzido e fixado na mesma e a outra extremidade exteriorizada na região cervical dorsal do animal de forma a permitir a sua livre movimentação.

Implante do sensor para temperatura

O implante do sensor de temperatura (Mini-mitter, Sunriver, OR modelo TR 3000 XM-FM, peso do transmissor 1,2 g) para a medida da temperatura

corporal foi feito sob anestesia com 2,2,2-tribromoetanol 2,5% (1mL/100 g de peso corporal, via ip). O sensor contendo uma bateria de lítio (3 V) foi vedado com parafina inerte. Posteriormente, ele foi calibrado com um termômetro de mercúrio a uma precisão de 0,04 °C. Em seguida, o sensor foi implantado na cavidade peritoneal por meio de uma pequena incisão na linha alba. Ao final do experimento os animais foram sacrificados com uma dose letal de anestésico e o sensor foi retirado. No local do implante não foram encontrados sinais de inflamação ou de infecção nos tecidos que cercavam o sensor.

Seleção dos animais

Para garantir que todos os animais utilizados no experimento fossem capazes de correr em uma esteira rolante foram utilizados apenas aqueles que previamente conseguiram correr a uma velocidade de 20 m/min durante 5 min a 0% de inclinação.

Adaptação à esteira rolante

Após a recuperação das cirurgias, os animais foram habituados a correr em uma esteira rolante a uma velocidade constante de 10 m/min, 0% de inclinação, 5 min por dia durante 5 dias consecutivos.

Microinjeção nos núcleos ventromediais hipotalâmicos

A microinjeção de 0,2 μL de solução de metilatropina (5×10^{-9} mol)(MATR) (Sigma, St. Louis, MO) ou NaCl 0,15 M (SAL) foi feita usando uma microseringa Hamilton de 1,0 μL conectada com PE10 à cânula guia do núcleo ventromedial. Em todos os experimentos a microinjeção foi feita 10 min antes do início do exercício.

Medida do consumo máximo de oxigênio

O consumo máximo de oxigênio foi medido após um período de adaptação ao exercício na esteira rolante. Os animais permaneciam em repouso por 30 min na esteira rolante específica para medidas metabólicas de pequenos animais em exercício (Columbus Instruments, Ohio, modelo Modular Treadmill, série 96002-2). O consumo de O_2 foi medido pela calorimetria indireta de circuito aberto (Columbus Instruments, Ohio, modelo Oximax) e o sistema foi previamente calibrado com uma mistura de gases: 20,5% de oxigênio e 0,5 % de gás carbônico. Os animais realizaram um exercício que iniciou com uma velocidade de 15 m/min a 0% de inclinação e foi aumentada de 1 m/min a cada minuto até a exaustão. Foram medidos simultaneamente: o consumo de oxigênio ($\text{mL.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$), a produção de dióxido de carbono ($\text{mL.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$), gasto calórico (kcal) e o índice de trocas respiratórias (R). Este procedimento permitiu-nos estabelecer que, iniciar a corrida a 24 m/min a 0% de inclinação equivale a 80% do $\text{VO}_{2\text{max}}$.

Medida do tempo total de exercício

O tempo total de exercício (min) foi definido como o tempo entre o início do exercício até o momento em que o animal não conseguia manter a velocidade previamente estabelecida de 24 m/min a 0% de inclinação (80% do VO_{2max}) preferindo sujeitar-se ao choque elétrico.

Colheita de sangue para medida de glicose e de lactato

A colheita de sangue para as medidas de glicose e de lactato foi feita por meio de uma cânula conectada ao cateter previamente implantado no átrio direito. Foram colhidos 100 μ L de sangue com o animal em repouso (30 min antes do experimento) e nos momentos 0 (início da corrida), 25, 50, 75 e 100% do tempo total de exercício previamente medido. O sangue foi mantido em tubos de plásticos sobre o gelo e em seguida centrifugado. A glicose e o lactato plasmático, em duplicatas de 25 μ L cada, foram analisados pelo analisador YSI 300 plus (Yellow Spring Instruments, Yellow Spring, OH) pelos métodos enzimáticos da glicose oxidase e de lactato oxidase, respectivamente.

Colheita de sangue e análise de catecolaminas

A colheita de sangue para a medida da adrenalina e da noradrenalina foi feita por meio de uma cânula conectada ao cateter previamente implantado no átrio direito. Foram colhidos 600 μ L de sangue com o animal em repouso (30 min antes do experimento) e nos momentos 0 (início da corrida) e 100% do

tempo total de exercício (24 m/min a 0% de inclinação) previamente medido. Após a colheita o sangue foi imediatamente centrifugado a 4 °C e o plasma colocado em tubos de plástico contendo metabissulfito de sódio (30mg/100µL) e armazenado a -80 °C para posterior dosagem. As catecolaminas plasmáticas foram extraídas pelo método de Anton & Sayre (1962) com pequenas modificações para um volume de 300µL de plasma e, foi analisada eletroquimicamente por cromatografia líquida de alta pressão (Shimadzu, Japan).

Colheita de sangue para a gasometria

A colheita de sangue para as medidas de PCO₂, PO₂, CO₂, bicarbonato e pH foi feita utilizando-se uma cânula conectada ao cateter previamente implantado ao átrio direito. O sangue foi colhido com o animal em repouso (30 min antes do experimento), e nos momentos 0 e 100% do tempo total de exercício (24 m/min a 0% de inclinação) previamente medido. Imediatamente após a colheita, o sangue foi analisado no Analisador de gás Ciba-Corning, modelo 248.

Medida dos parâmetros cardiovasculares

As medidas de pressões arterial média, sistólica e diastólica e da frequência cardíaca foram feitas continuamente durante o exercício por meio de um cateter implantado na aorta e conectado a um transdutor de pressão previamente calibrado, que por sua vez era conectado a um sistema de

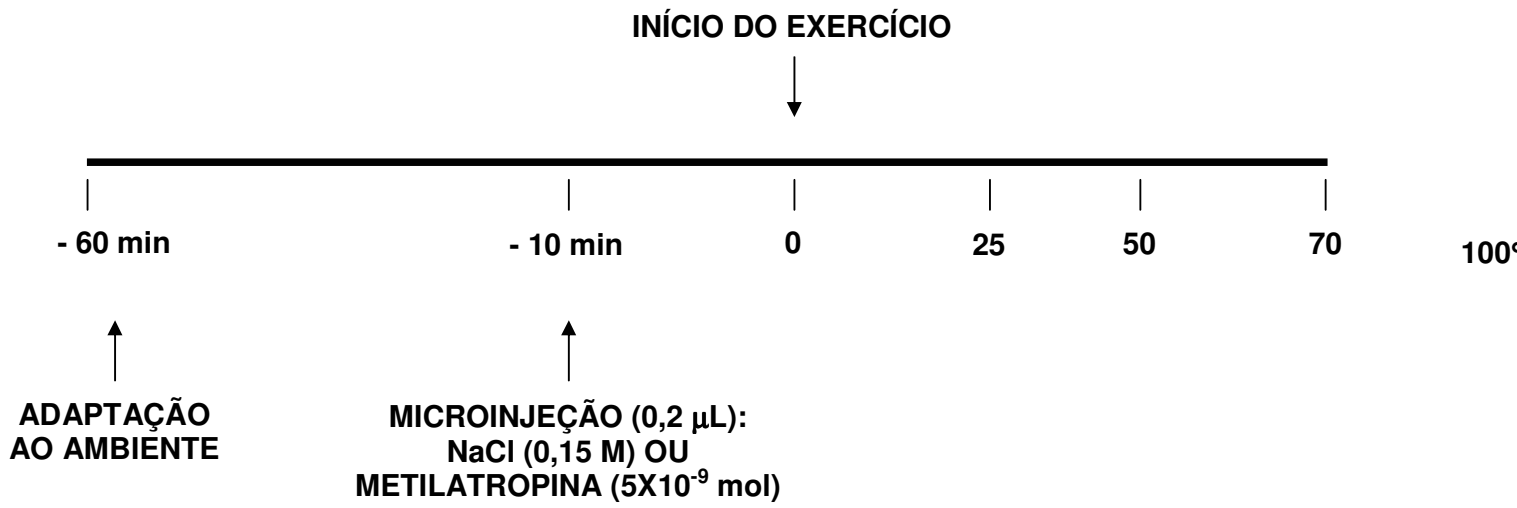
aquisição de dados (Biopac Systems Inc., modelo MP100A-CE série 198122765, Santa Bárbara, CA).

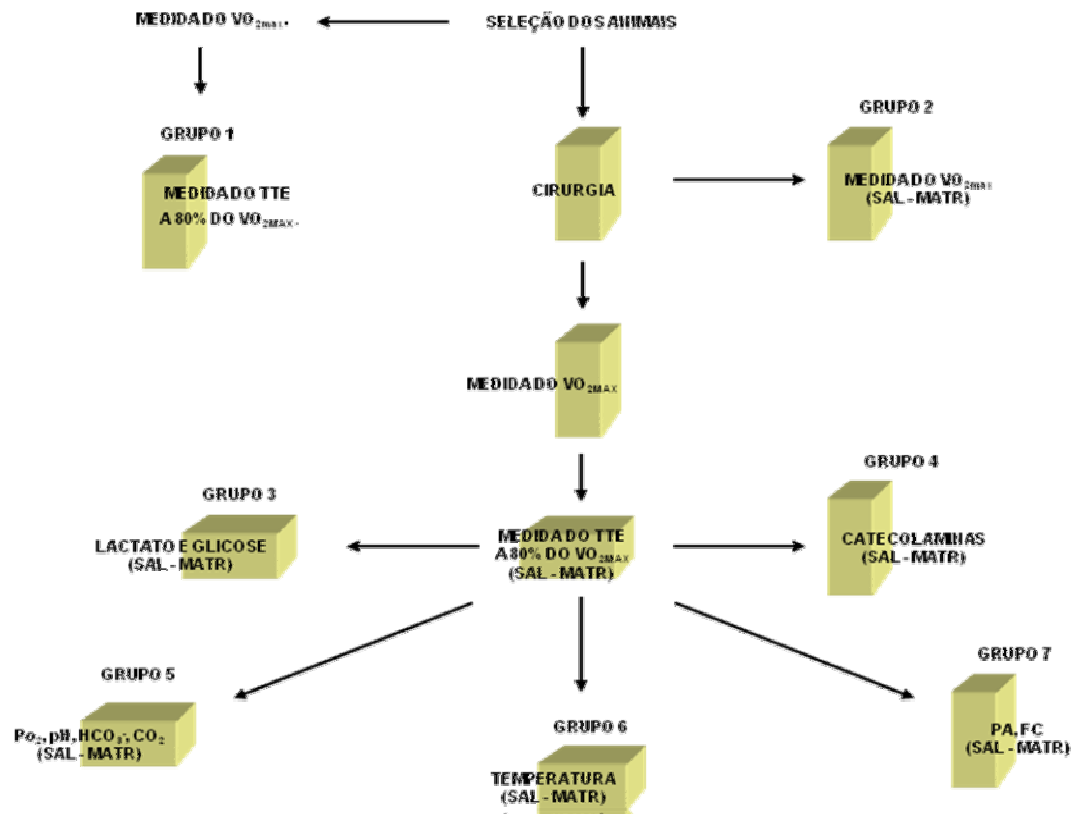
Medida da temperatura corporal

A temperatura corporal foi monitorada continuamente por telemetria durante o repouso ou em exercício (24 m/min a 0% de inclinação) (VitalView Data Acquisition System). A temperatura da sala onde foram realizados os experimentos foi mantida em $22 \pm 1,5$ °C e a umidade relativa do ar em $64,5 \pm 5,8$ °C. O fluxo de ar dentro da caixa metabólica foi de 0,5 m/s.

Verificação dos implantes das cânulas nos núcleos ventromediais hipotalâmicos.

Ao término dos experimentos, usando-se o mesmo procedimento para a microinjeção da metilatropina, os animais receberam uma microinjeção (0,2 µL) de Alcian Blue (5%) nos núcleos ventromediais e foram sacrificados com uma dose letal de anestésico. Em seguida, foram perfundidos com uma solução salina e formaldeído a 4% em tampão fosfato. Os cérebros foram removidos e mantidos em formol a 4% para posterior verificação do local da microinjeção. Os cérebros foram submetidos à secção frontal por meio de micrótomo de congelamento e corados pelo cresil violeta. Este procedimento permitiu confirmar a localização das cânulas nos núcleos ventromediais hipotalâmicos.

Protocolo experimental:



Representação esquemática mostrando a seqüência dos experimentos e como foram formados os sete grupos de animais para a realização deste trabalho.

Análise Estatística

O delineamento observado foi o de Parcelas subdivididas com tratamento nas parcelas (fatorial 2^2) e tempo nas subparcelas com número semelhante de animais em cada tratamento. Todos os dados foram submetidos a análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste *t* de Student por meio do cálculo das diferenças mínimas significativas (DMS) exigidas por esse delineamento. A significância foi de $p \leq 0,05$ (Cochran & Cox 1968).

Efeito da microinjeção de metilatropina nos núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre o VO_{2max} .

A figura 1 mostra o consumo máximo de oxigênio (VO_{2max}) de ratos que não sofreram nenhuma intervenção cirúrgica (SC) e daqueles que receberam a administração bilateral de 0,2 μ L de NaCl 0,15 M ou de metilatropina (5×10^{-9} mol) (MATR) nos núcleos ventromediais do hipotálamo correndo em uma esteira rolante a 0% de inclinação com uma velocidade inicial de 15 m/min e aumento de 1m/min a cada minuto até a exaustão. Os animais sem nenhuma intervenção cirúrgica apresentaram um VO_{2max} de $56,4 \pm 1,2 \text{ mL.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$. O resultado mostra que a microinjeção bilateral de metilatropina nos núcleos ventromediais hipotalâmicos não modifica o VO_{2max} durante o exercício em uma esteira rolante: $53,0 \pm 2,3 \text{ mL.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$ MATR vs. $55,0 \pm 0,9 \text{ mL.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$, SAL.

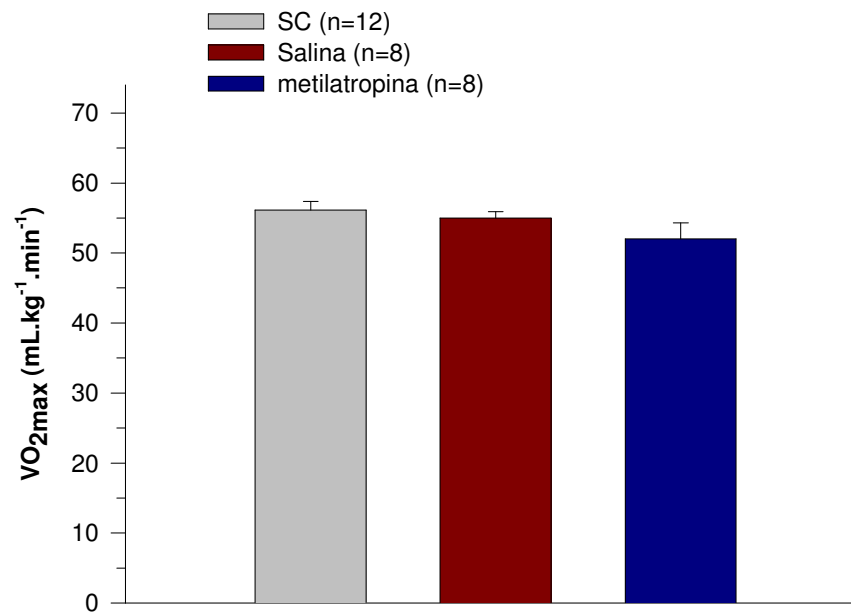


Fig. 1 – Consumo máximo de oxigênio (VO_{2max}) de ratos sem intervenção cirúrgica (SC) e de ratos tratados com 0,2 μ L de metilatropina (5×10^{-9} mol) ou de NaCl (0,15 M) nos núcleos ventromediais hipotalâmicos de ratos correndo em uma esteira rolante. Os dados representam as médias \pm SEM.

Efeito da microinjeção de metilatropina nos núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre a velocidade máxima.

O resultado apresentado na Fig. 2 mostra que a microinjeção bilateral de 0,2 µL de metilatropina (5×10^{-9} mol) nos núcleos ventromediais do hipotálamo não modifica a velocidade máxima de ratos correndo em uma esteira rolante a 0% de inclinação com uma velocidade inicial de 15 m/min e aumento de 1 m/min a cada minuto até a exaustão. Como pode ser observada a velocidade máxima de corrida atingida pelo grupo MATR, não foi diferente quando comparado à velocidade máxima atingida pelo grupo previamente tratado com salina: $29,6 \pm 2,4$ MATR vs. $30,5 \pm 0,6$ m/min, SAL.

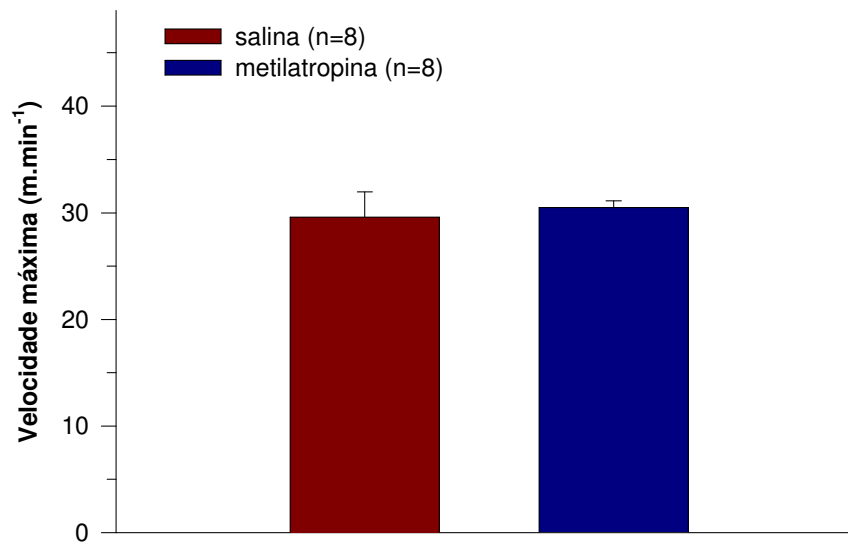


Fig. 2 - Efeito da microinjeção bilateral de 0,2 μ L de NaCl (0,15M) ou de metilatropina (5×10^{-9} mol) nos núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre a velocidade máxima de ratos correndo em uma esteira rolante a uma velocidade inicial de 15 m/min e 0% de inclinação e aumento de 1 m/min a cada minuto. Os dados representam as médias \pm EPM.

Efeito da microinjeção de metilatropina nos núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre o tempo total de exercício a 80% do VO_{2max} .

O resultado apresentado na Fig 3 mostra que os animais controle que receberam injeção bilateral de 0,2 μ L de NaCl (0,15M) nos núcleos ventromediais do hipotálamo apresentaram um tempo máximo de exercício de $43,8 \pm 2,9$ min quando corriam a 24 m/min a 0% de inclinação (80% do VO_{2max}). A administração bilateral de 0,2 μ L de metilatropina (5×10^{-9} mol) nos referidos núcleos provocou uma drástica redução no tempo total de exercício $23,4 \pm 2,0$ min (46% de redução) ($p \leq 0,001$).

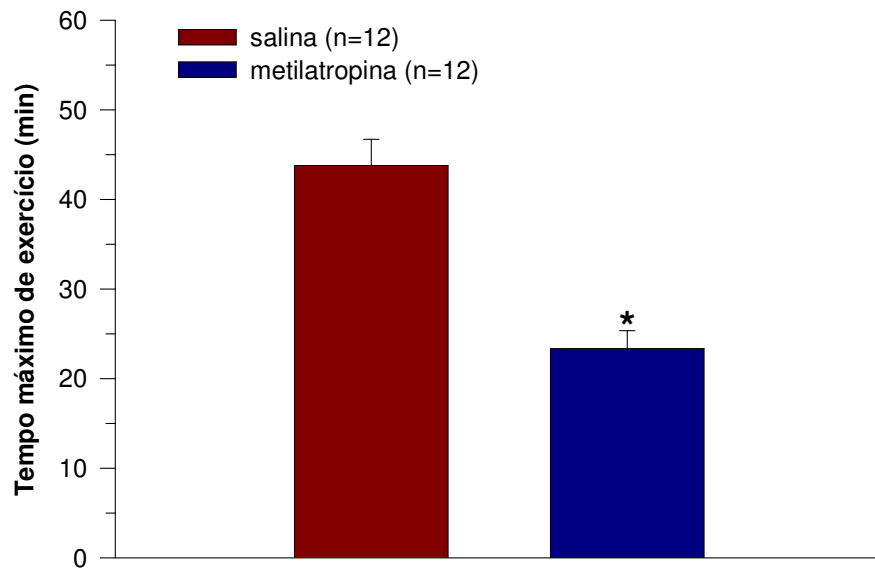


Fig. 3 Efeito da microinjeção bilateral de 0,2 μL de salina (0,15M) ou de metilatropina (5×10^{-9} mol) nos núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre o tempo total de exercício de ratos correndo em uma esteira rolante a 24 m/min a 0% de inclinação (80% $\text{VO}_{2\text{max}}$). Os dados representam as médias \pm EPM.

*= $p \leq 0,001$ em relação ao grupo salina.

Efeito da microinjeção de metilatropina nos núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre o gasto calórico.

A Fig. 4 mostra o gasto calórico de ratos que receberam injeção bilateral de 0,2 μ L de NaCl (0,15 M) ou de metilatropina (5×10^{-9} mol) nos núcleos ventromediais do hipotálamo correndo até a exaustão a 24 m/min numa esteira rolante a 0% de inclinação (80% do VO_{2max}). Como podem ser observados, os ratos tratados com salina apresentaram um gasto calórico total de $10,2 \pm 0,5$ kcal. O pré tratamento com metilatropina reduziu em 57,2% o gasto calórico total ($5,8 \pm 0,2$ kcal, $p \leq 0,001$) quando comparado com os animais pré tratados com salina.

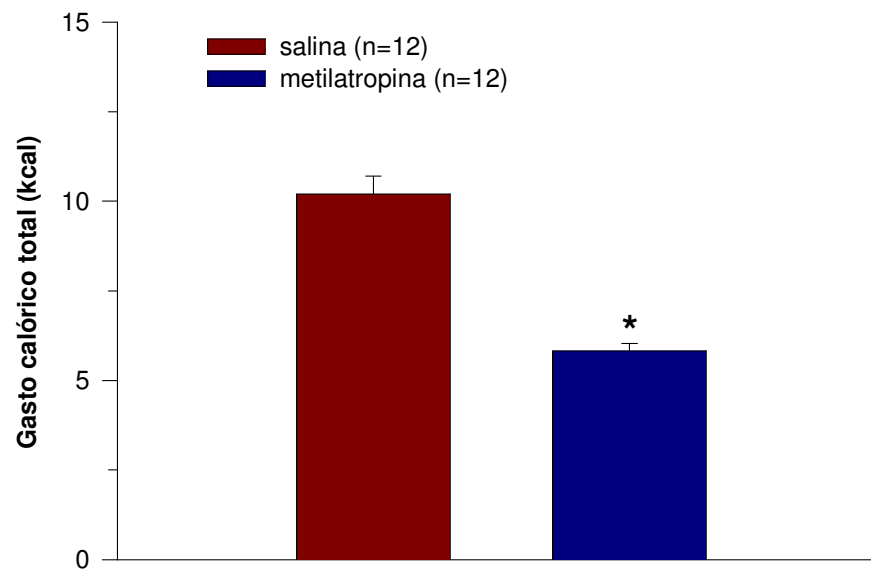


Fig. 4 – Efeito da microinjeção bilateral de 0,2 μ L de NaCl (0,15 M) ou de metilotropina (5×10^{-9} mol) ns núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre o gasto calórico total de ratos correndo até a exaustão em uma esteira rolante a 24 m/min a 0% de inclinação (80% do VO_{2max}). Os dados representam as médias \pm EPM. * $p \leq 0,001$ em relação ao grupo controle.

Efeito da microinjeção de metilatropina nos núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre o bicarbonato sanguíneo.

A figura 5 mostra que a concentração de bicarbonato sanguíneo dos ratos em repouso sem o tratamento com salina ou metilatropina, era de $31,9 \pm 0,7$ mM. Esta figura mostra que ao final de uma corrida a 24 m/min a 0% de inclinação (80% do VO_{2max}) a concentração sanguínea de bicarbonato estava diminuída tanto nos animais pré tratados com microinjeção bilateral de NaCl 0,15 M ($29,7 \pm 1,1$ mM, inicial vs. $25,3 \pm 1,0$ mM, final, $p \leq 0,05$) ou com metilatropina (5×10^{-9} mol) ($29,0 \pm 1,6$ mM, inicial vs. $24,5 \pm 1,3$ mM, final, $p \leq 0,05$).

Esta redução foi antecipada em 46% do tempo total de exercício nos animais que foram pré tratados com metilatropina nos núcleos ventromediais do hipotálamo quando comparada ao grupo salina ($43,8 \pm 2,9$ min SAL vs. $23,4 \pm 2,0$ min MATR, $p \leq 0,001$).

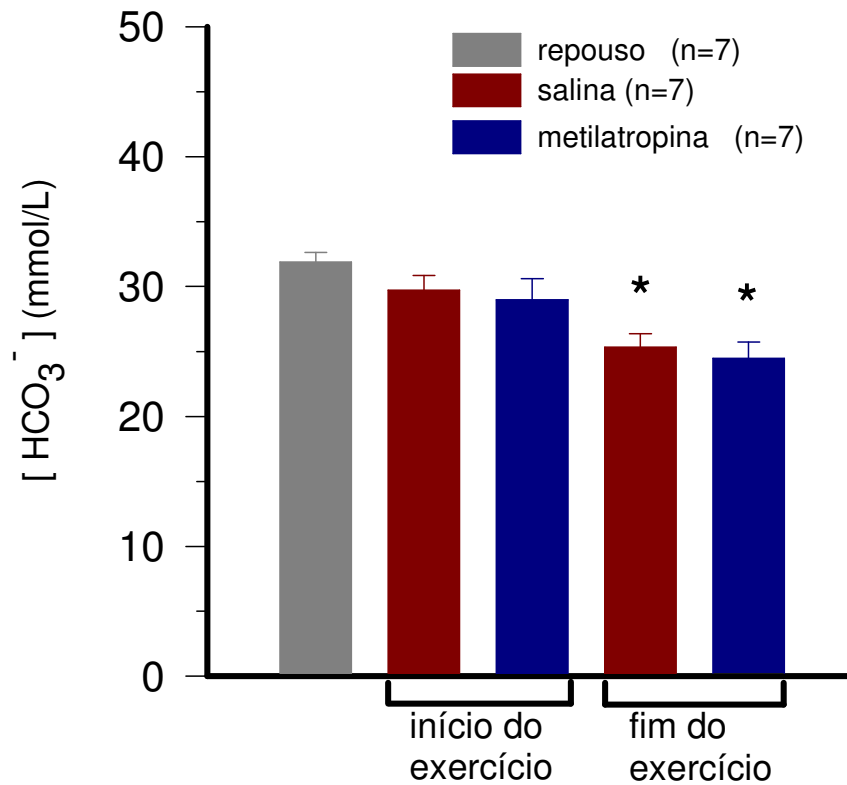


Fig. 5 – Efeito da microinjeção bilateral de $0,2 \mu\text{L}$ de NaCl ($0,15 \text{ M}$) ou de metilotropina ($5 \times 10^{-9} \text{ mol}$) nos núcleos ventromediais do hipotálamo sobre a concentração de bicarbonato sangüíneo de ratos correndo até a exaustão em uma esteira rolante a 24 m/min a 0% de inclinação (80% do $\text{VO}_{2\text{max}}$). Os dados representam as médias \pm EPM. $*p \leq 0,05$ em relação ao repouso (sem tratamento com salina ou metilotropina) e imediatamente antes do tempo zero.

Efeito da microinjeção de metilatropina nos núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre o pH sanguíneo.

A figura 6 mostra que os animais em repouso apresentaram um pH sanguíneo de $7,45 \pm 0,01$. Os animais pré tratados com microinjeção bilateral de $0,2 \mu\text{L}$ de NaCl ($0,15 \text{ M}$) nos núcleos ventromediais hipotalâmicos e correndo a 24 m/min a 0% de inclinação (80% do $\text{VO}_{2\text{max}}$) até a exaustão não apresentaram alterações no pH sanguíneo: $7,47 \pm 0,02$ inicial vs. $7,44 \pm 0,01$ final. Os ratos pré tratados com microinjeção bilateral de $0,2 \mu\text{L}$ de metilatropina ($5 \times 10^{-9} \text{ mol}$) e realizando o mesmo exercício, apresentaram um comportamento semelhante aos pré tratados com salina, isto é, não houve diferença no pH sanguíneo durante o exercício: $7,45 \pm 0,01$ inicial vs. $7,40 \pm 0,03$ final.

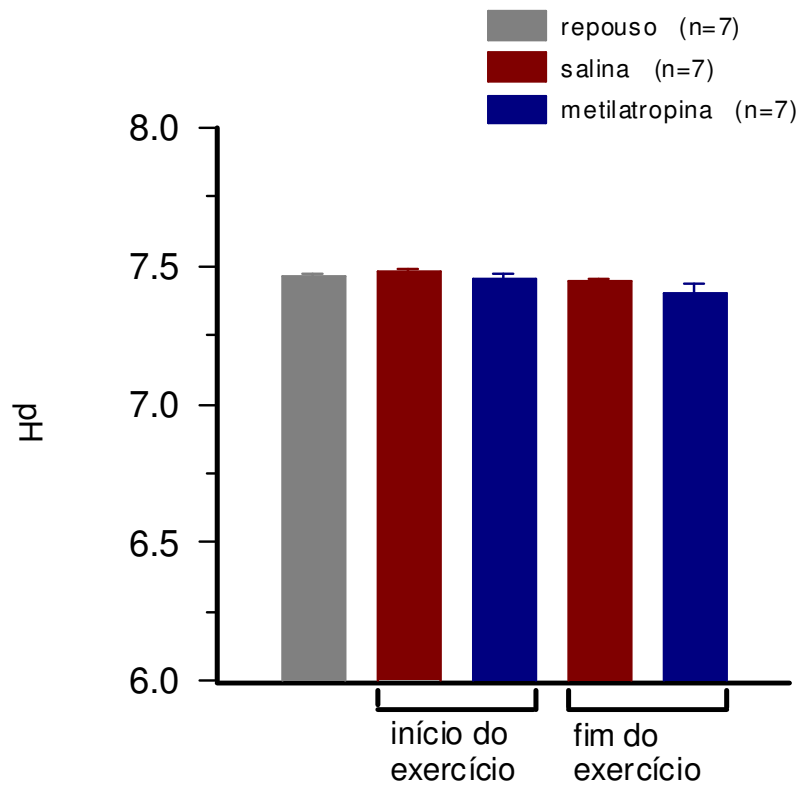


Fig. 6 – Efeito da microinjeção bilateral de 0,2 μ L de NaCl (0,15 M) ou de metilotropina (5×10^{-9} mol) nos núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre o pH sanguíneo de ratos correndo até a exaustão em uma esteira rolante a 24 m/min a 0% de inclinação (80% do VO_{2max}). Os dados representam as médias \pm EPM.

Efeito da microinjeção de metilatropina nos núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre a pressão parcial de CO₂ sanguínea.

A figura 7 mostra a pressão parcial de CO₂ de ratos em repouso sem as intervenções cirúrgicas e tratamento com salina ou bloqueador colinérgico: $46,1 \pm 1,8$ mmol/L. A corrida de 24 m/min a 0% de inclinação (80% do VO_{2max}) até a exaustão reduziu a pressão parcial de CO₂ sanguínea no final do exercício, tanto nos animais pré tratados com a microinjeção bilateral de 0,2 µL de NaCl (0,15M) ($41,3 \pm 2,2$ mmHg, inicial vs. $38,1 \pm 1,8$ mmHg, final, $p \leq 0,05$); quanto nos pré tratados com metilatropina (5×10^{-9} mol) ($42,1 \pm 2,9$ mmHg, inicial vs. $39,9 \pm 1,4$ mmHg, final, $p \leq 0,05$). Esta redução foi antecipada em 46% do tempo total de exercício nos animais que foram pré tratados bilateralmente com metilatropina nos núcleos ventromediais do hipotálamo quando comparada ao grupo salina ($43,8 \pm 2,9$ min SAL vs. $23,4 \pm 2,0$ min MATR, $p \leq 0,001$).

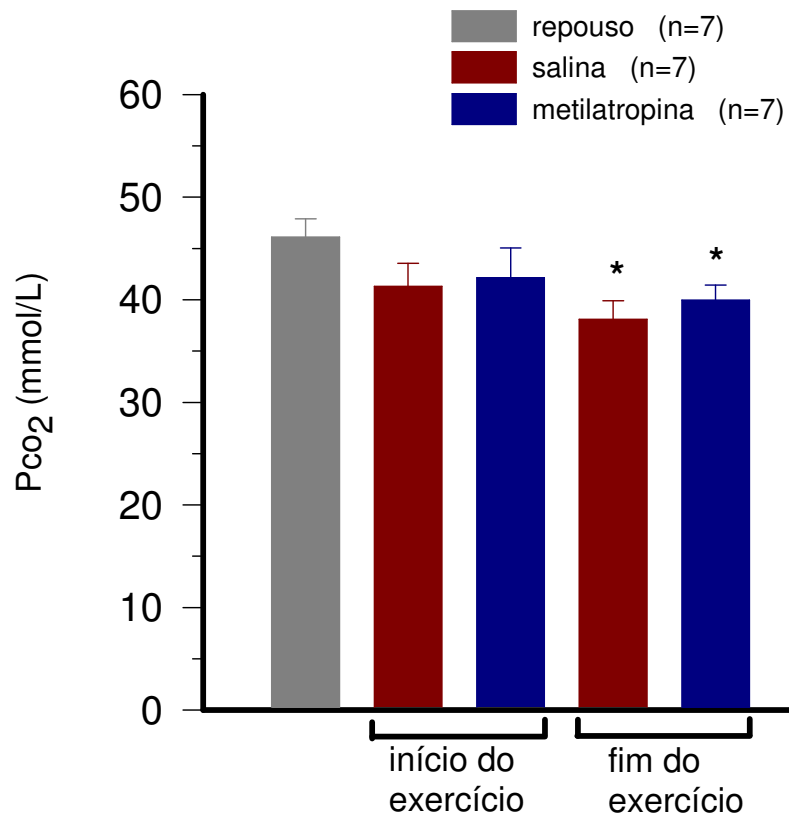


Fig. 7 – Efeito da microinjeção bilateral de 0,2 μ L de salina (0,15 M) ou de metilatropina (5×10^{-9} mol) nos núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre a P_{CO₂} sangüínea de ratos correndo até a exaustão em uma esteira rolante a 24 m/min a 0% de inclinação (80% do VO_{2max}). Os dados representam as médias \pm EPM. * $p \leq 0,05$ em relação ao repouso (sem tratamento com salina ou metilatropina) e imediatamente antes do início do exercício.

Efeito da microinjeção de metilatropina nos núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre a concentração sanguínea de CO₂.

Na figura 8 está representada a concentração sanguínea de CO₂ de ratos em repouso sem as intervenções cirúrgicas ou tratamentos com drogas colinérgicas cujo valor era $33,4 \pm 0,8$ mmol/L. A figura mostra ainda que a corrida de 24 m/min a 0% de inclinação (80% do VO_{2max}) até a exaustão reduziu a concentração sanguínea de CO₂ no final do exercício, tanto nos animais pré tratados com a microinjeção bilateral de 0,2 µL de NaCl (0,15M) ($29,7 \pm 1,1$ mM, inicial vs. $25,3 \pm 1,0$ mM, final, $p \leq 0,05$); quanto nos pré tratados com metilatropina (5×10^{-9} mol) ($30,3 \pm 1,7$ mM, inicial vs. $25,7 \pm 1,3$ mM, final, $p \leq 0,05$). Esta redução foi antecipada em 46% do tempo total de exercício nos animais que foram pré tratados bilateralmente com metilatropina nos núcleos ventromediais do hipotálamo quando comparada ao grupo salina ($43,8 \pm 2,9$ min SAL vs. $23,4 \pm 2,0$ min MATR, $p \leq 0,001$).

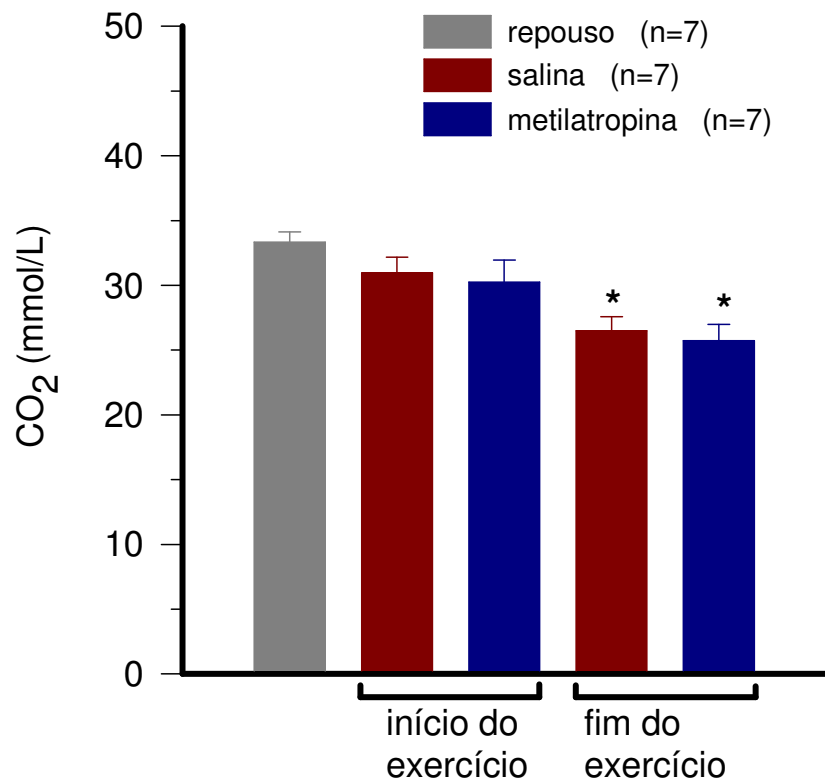


Fig. 8 - Efeito da microinjeção bilateral de 0,2 μ L de salina (0,15 M) ou de metilatropina (5×10^{-9} mol) nos núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre o CO₂ sangüíneo de ratos correndo até a exaustão em uma esteira rolante a 24 m/min a 0% de inclinação (80% do VO_{2max}). Os dados representam as médias \pm EPM. * $p \leq 0,05$ em relação ao repouso (sem tratamento com salina ou metilatropina) e imediatamente antes do início do exercício

Efeito da microinjeção de metilatropina nos núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre os níveis plasmáticos de noradrenalina.

Na figura 9 está representada a concentração plasmática de noradrenalina de ratos em repouso sem as intervenções cirúrgicas ou tratamentos com drogas colinérgicas cujo valor era $0,43 \pm 0,04$ ng/mL. A figura mostra ainda que a corrida de 24 m/min a 0% de inclinação (80% do VO_{2max}) até a exaustão aumentou a concentração plasmática de noradrenalina no final do exercício, tanto nos animais pré tratados com a microinjeção bilateral de $0,2 \mu\text{L}$ de NaCl (0,15M) ($0,52 \pm 0,15$ ng/mL, inicial vs. $0,8 \pm 0,2$ ng/mL, final, $p \leq 0,05$); quanto nos pré tratados com metilatropina (5×10^{-9} mol) ($0,65 \pm 0,3$ ng/mL, inicial vs. $1,40 \pm 0,4$ ng/mL, final, $p \leq 0,05$). A figura mostra também que a concentração plasmática de noradrenalina foi maior ao final do exercício no grupo tratado com metilatropina quando comparado ao grupo salina ($1,4 \pm 0,4$ ng/mL MATR vs. $0,8 \pm 0,2$ ng/mL SAL, $p \leq 0,05$). Este aumento foi antecipado em 46% do tempo total de exercício nos animais que foram pré tratados bilateralmente com metilatropina nos núcleos ventromediais do hipotálamo quando comparado ao grupo salina ($43,8 \pm 2,9$ min SAL vs. $23,4 \pm 2,0$ min MATR, $p \leq 0,001$).

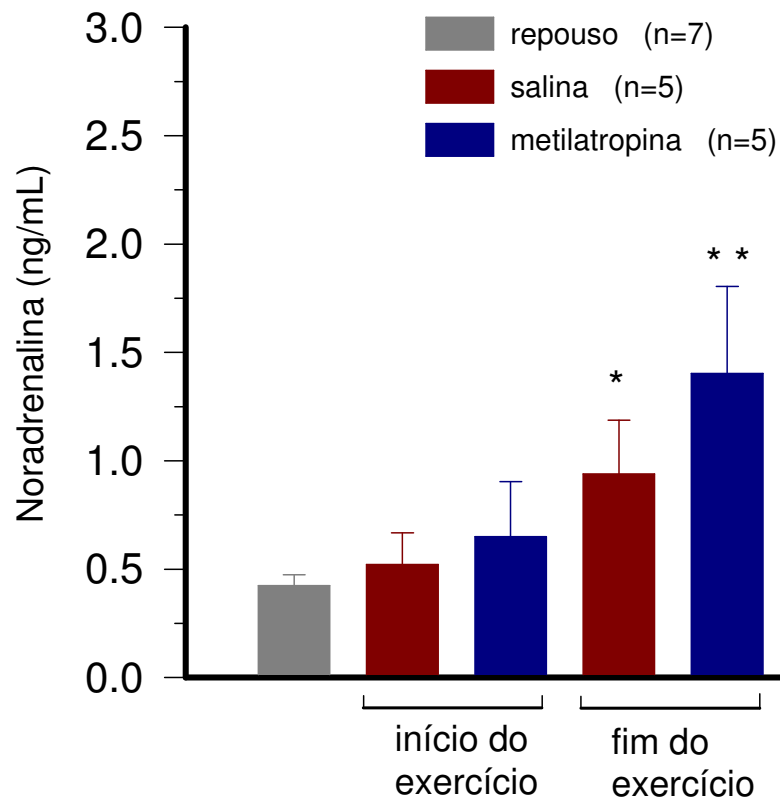


Fig. 9 - Efeito da microinjeção bilateral de 0,2 μ L de NaCl (0,15 M) ou de metilotropina (5×10^{-9} mol) nos núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre a concentração de noradrenalina sangüínea de ratos correndo até a exaustão em uma esteira rolante a 24 m/min a 0% de inclinação (80% do VO_{2max}). Os dados representam as médias \pm EPM. * $p \leq 0,05$ em relação ao repouso (sem tratamento com salina ou metilotropina) e imediatamente antes do início do exercício. ** $p \leq 0,05$ em relação ao repouso e ao grupo salina no final do exercício.

Efeito da microinjeção de metilatropina nos núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre os níveis plasmáticos de adrenalina.

Na figura 10 está representada a concentração sangüínea de adrenalina de ratos em repouso sem as intervenções cirúrgicas ou tratamentos com drogas colinérgicas cujo valor era $1,0 \pm 0,03$ ng/mL. A figura mostra ainda que a corrida de 24 m/min a 0% de inclinação (80% do VO_{2max}) até a exaustão aumentou a concentração sangüínea de adrenalina no final do exercício, tanto nos animais pré-tratados com a microinjeção bilateral de 0,2 μ L de NaCl (0,15M) ($0,76 \pm 0,01$ ng/mL, inicial vs. $2,01 \pm 0,5$ ng/mL, final, $p \leq 0,05$); quanto nos com metilatropina (5×10^{-9} mol) ($1,31 \pm 0,07$ ng/mL, inicial vs. $3,08 \pm 0,65$ mM, final, $p \leq 0,05$). A figura mostra também que a concentração plasmática de adrenalina foi maior ao final do exercício no grupo tratado com metilatropina quando comparado com o grupo salina ($2,02 \pm 0,5$ ng/mL SAL vs. $3,08 \pm 0,7$ ng/mL MATR, $p \leq 0,05$). Este aumento foi antecipado em 46% do tempo total de exercício nos animais que foram pré-tratados bilateralmente com metilatropina nos núcleos ventromediais do hipotálamo quando comparado ao grupo salina ($43,8 \pm 2,9$ min SAL vs. $23,4 \pm 2,0$ min MATR, $p \leq 0,001$).

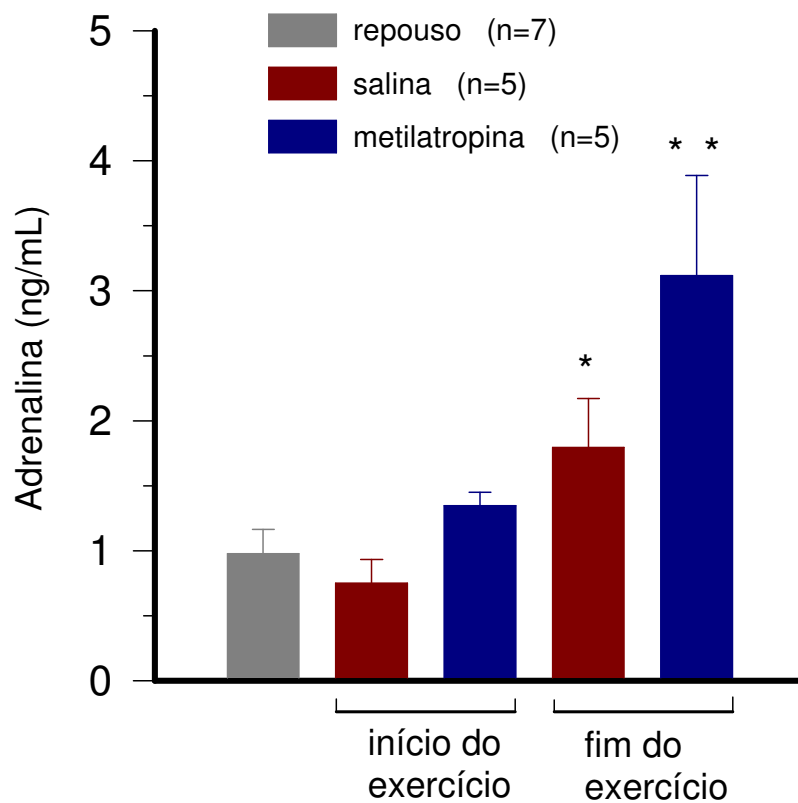


Fig. 10 - Efeito da microinjeção bilateral de 0,2 μ L de NaCl (0,15 M) ou de metilatropina (5×10^{-9} mol) nos núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre a concentração de adrenalina sangüínea de ratos correndo até a exaustão em uma esteira rolante a 24 m/min a 0% de inclinação (80% do VO_{2max}). Os dados representam as médias \pm EPM. * $p \leq 0,05$ em relação ao grupo salina imediatamente antes do exercício ** $p \leq 0,05$ em relação ao grupo salina imediatamente antes do início e imediatamente antes do final do exercício.

Efeito da microinjeção de metilatropina nos núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre a pressão arterial média.

A figura 11 mostra que a corrida de 24 m/min a 0% de inclinação (80% do VO_{2max}) até a exaustão aumentou a pressão arterial média (PAM) tanto nos animais pré-tratados com a microinjeção bilateral de 0,2 μ L de NaCl (0,15M) quanto nos pré tratados com metilatropina (5×10^{-9} mol) nos núcleos ventromediais do hipotálamo. Os valores da pressão arterial média nos tempos absolutos foram para os grupos SAL: $126,3 \pm 1,3$ mmHg, final vs. $117,3 \pm 1,4$ mmHg, inicial ($p \leq 0,05$) e MATR: $129,7 \pm 1,8$ mmHg, final vs. $122,3 \pm 1,9$ mmHg, inicial ($p \leq 0,05$). É importante salientar que o aumento da PAM ocorreu em um tempo de exercício 46% menor para o grupo tratado bilateralmente com metilatropina nos núcleos ventromediais do hipotálamo quando comparado ao grupo salina ($43,8 \pm 2,9$ min SAL vs. $23,4 \pm 2,0$ min MATR, $p \leq 0,001$). Quando os valores da pressão arterial média dos grupos pré tratados com metilatropina ou com salina foram comparados em função do percentual do tempo total de exercício não foram encontrados diferenças entre os dois grupos.

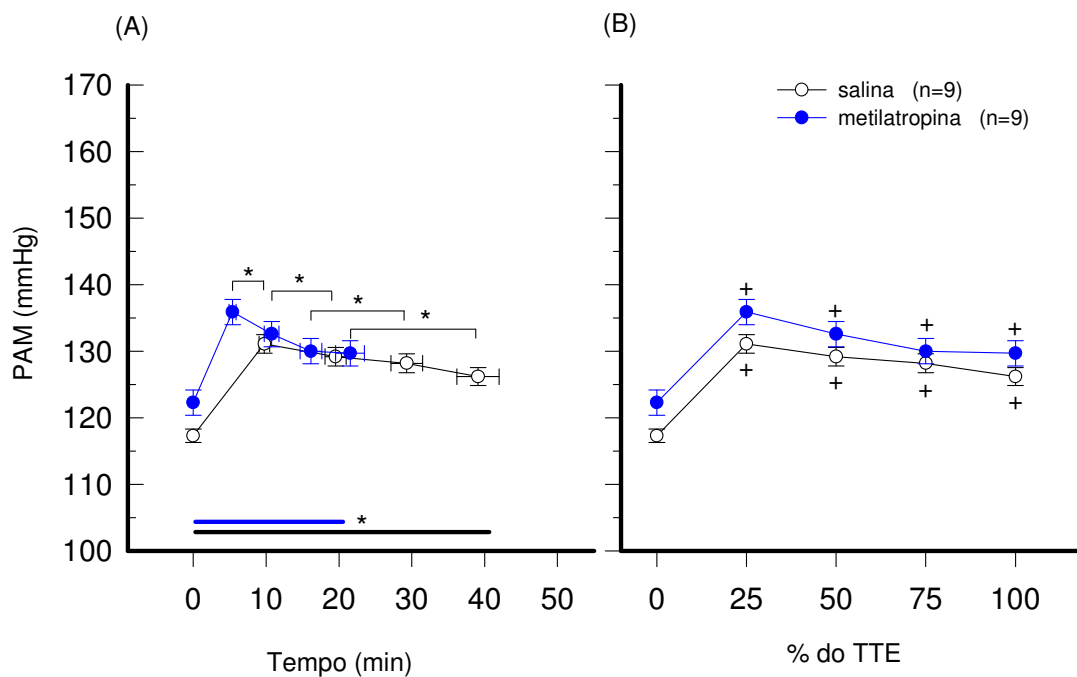


Fig. 11 - Efeito da microinjeção bilateral de 0,2 μ L de NaCl (0,15 M) ou de metilotropina (5×10^{-9} mol) nos núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre a pressão arterial média (PAM) de ratos correndo até a exaustão em uma esteira rolante a 24 m/min a 0% de inclinação (80% do VO_{2max}). **(A)** valores da pressão arterial média em relação ao tempo absoluto do exercício; * $p \leq 0,01$ em relação ao grupo salina. **(B)** valores da pressão arterial média em função do percentual do tempo máximo do exercício; + $p \leq 0,05$ em relação aos valores imediatamente antes do tempo 0. Os dados representam as médias \pm EPM. As barras horizontais na parte inferior do gráfico representam as médias do tempo máximo de exercício: preto: salina e azul: metilotropina.

Efeito da microinjeção de metilatropina nos núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre a pressão diastólica.

O resultado apresentado na figura 12 mostra que a corrida de 24 m/min a 0% de inclinação (80% do VO_{2max}) até a exaustão aumentou a pressão arterial diastólica tanto nos animais pré-tratados com a microinjeção bilateral de 0,2 μ L de NaCl (0,15M) quanto nos pré tratados com metilatropina (5×10^{-9} mol) nos núcleos ventromediais do hipotálamo. Os valores da pressão diastólica (PD) nos tempos absolutos foram para os grupos SAL: $108,8 \pm 1,8$ mmHg, final vs. $103,9 \pm 1,8$ mmHg, inicial ($p \leq 0,05$) e MATR: $112,9 \pm 2,0$ mmHg, final vs. $108,0 \pm 2,0$ mmHg, inicial. É importante salientar que o aumento da pressão diastólica ocorreu em um tempo de exercício 46% menor para o grupo tratado bilateralmente com metilatropina nos núcleos ventromediais do hipotálamo quando comparado ao grupo salina ($43,8 \pm 2,9$ min SAL vs. $23,4 \pm 2,0$ min MATR, $p \leq 0,001$). Quando os valores da pressão diastólica dos grupos pré tratados com metilatropina ou com salina foram comparados em função do percentual do tempo total de exercício não foram encontrados diferenças entre os dois grupos experimentais.

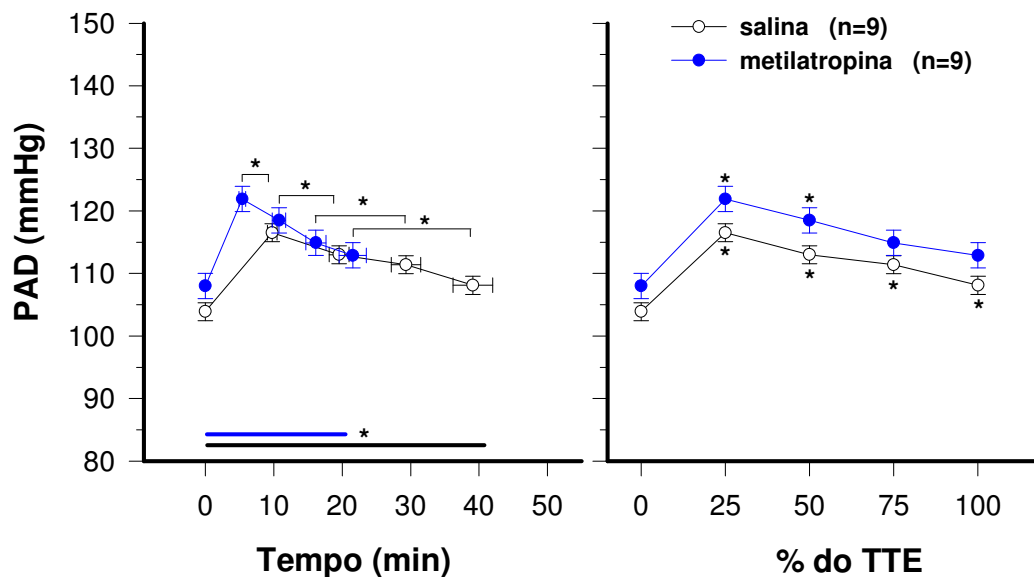


Fig. 12 - Efeito da microinjeção bilateral de 0,2 μL de NaCl (0,15 M) ou de metilotropina (5×10^{-9} mol) nos núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre a pressão diastólica (PD) de ratos correndo até a exaustão em uma esteira rolante a 24 m/min a 0% de inclinação (80% do $\text{VO}_{2\text{max}}$). **(A)** valores da pressão diastólica em função do tempo absoluto do exercício; * $p \leq 0,01$ em relação ao grupo salina. **(B)** valores da pressão diastólica em função do percentual do tempo máximo do exercício (TTE); + $p \leq 0,05$ em relação aos valores imediatamente antes do tempo 0. Os dados representam as médias \pm EPM. As barras horizontais na parte inferior do gráfico representam as médias do tempo máximo de exercício: preto: salina e em azul: metilotropina.

Efeito da microinjeção de metilatropina nos núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre a pressão sistólica.

O resultado apresentado na figura 13 mostra que a corrida de 24 m/min a 0% de inclinação (80% do VO_{2max}) até a exaustão aumentou a pressão sistólica tanto nos animais pré-tratados com a microinjeção bilateral de 0,2 μ L de NaCl (0,15M) quanto nos pré tratados com metilatropina (5×10^{-9} mol) nos núcleos ventromediais do hipotálamo. Os valores da pressão sistólica (PS) nos tempos absolutos foram para os grupos SAL: $139,8 \pm 1,9$ mmHg, final vs. $123,8 \pm 1,9$ mmHg, inicial ($p \leq 0,05$) e MATR: $138,2 \pm 2,1$ mmHg, final vs $133,5 \pm 2,1$ mmHg, inicial ($p \leq 0,05$). É importante salientar que o aumento da pressão sistólica ocorreu em um tempo de exercício 46% menor para o grupo tratado bilateralmente com metilatropina nos núcleos ventromediais do hipotálamo quando comparado ao grupo salina ($43,8 \pm 2,9$ min SAL vs. $23,4 \pm 2,0$ min MATR, $p \leq 0,001$). Quando os valores da pressão sistólica dos grupos pré tratados com metilatropina ou com salina foram comparados em função do percentual do tempo total de exercício não foram encontrados diferenças entre os dois grupos.

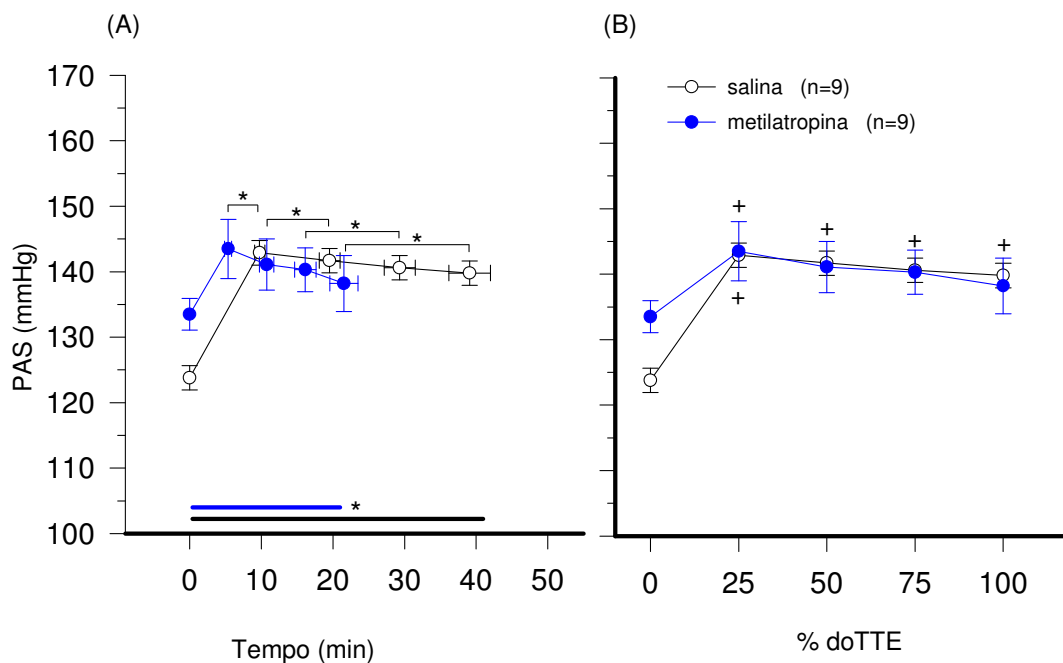


Fig. 13 - Efeito da microinjeção bilateral de 0,2 μ L de NaCl (0,15 M) ou de metilotropina (5×10^{-9} mol) nos núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre a pressão sistólica (PS) de ratos correndo até a exaustão em uma esteira rolante a 24 m/min a 0% de inclinação (80% do VO_{2max}). **(A)** valores da pressão sistólica em função do tempo absoluto do exercício; * $p \leq 0,01$ em relação ao grupo salina. **(B)** valores da pressão sistólica em função do percentual do tempo máximo do exercício (TTE); + $p \leq 0,05$ em relação aos valores imediatamente antes do tempo 0. Os dados representam as médias \pm EPM. As barras horizontais na parte inferior do gráfico representam as médias do tempo máximo de exercício: preto: salina e em azul: metilotropina.

Efeito da microinjeção de metilatropina nos núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre a frequência cardíaca

O resultado apresentado na figura 14 mostra que a corrida de 24 m/min a 0% de inclinação (80% do VO_{2max}) até a exaustão aumentou a frequência cardíaca tanto nos animais pré-tratados com a microinjeção bilateral de 0,2 μ L de NaCl (0,15M) quanto nos pré tratados com metilatropina (5×10^{-9} mol) nos núcleos ventromediais do hipotálamo. Os valores da frequência cardíaca nos tempos absolutos foram para os grupos SAL: $468,8 \pm 12,1$ bpm, final vs. $412,9 \pm 12,1$ bpm, inicial ($p \leq 0,05$) e MATR: $479,0 \pm 5,7$ bpm, final vs. $422,4 \pm 5,7$ bpm, inicial ($p \leq 0,05$). É importante salientar que o aumento da frequência cardíaca ocorreu em um tempo de exercício 46% menor para o grupo tratado bilateralmente com metilatropina nos núcleos ventromediais do hipotálamo quando comparado ao grupo salina ($43,8 \pm 2,9$ min SAL vs. $23,4 \pm 2,0$ min MATR, $p \leq 0,001$). Quando os valores da frequência cardíaca dos grupos pré tratados com metilatropina ou com salina foram comparados em função do percentual do tempo total de exercício não foram encontrados diferenças entre os dois grupos.

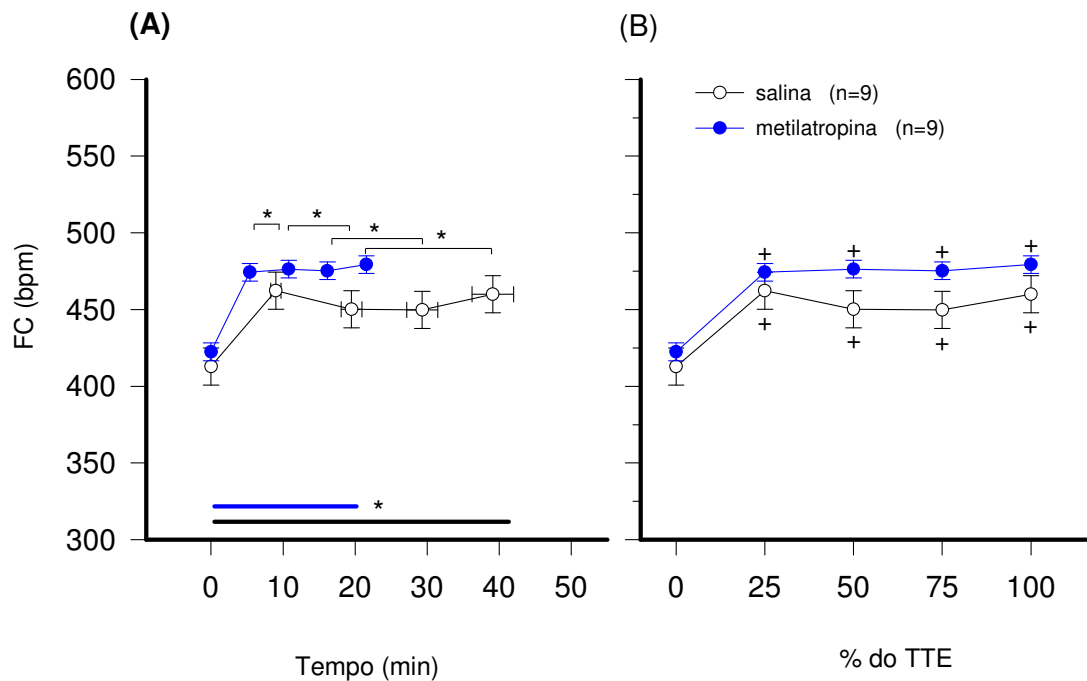


Fig. 14 - Efeito da microinjeção bilateral de 0,2 μ L de NaCl (0,15 M) ou de metilotropina (5×10^{-9} mol) nos núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre a frequência cardíaca (FC) de ratos correndo até a exaustão em uma esteira rolante a 24 m/min a 0% de inclinação (80% do VO_{2max}). **(A)** valores da frequência cardíaca em função do tempo absoluto do exercício; * $p \leq 0,01$ em relação ao grupo salina. **(B)** valores da frequência cardíaca em função do percentual do tempo máximo do exercício (TTE); + $p \leq 0,05$ em relação aos valores imediatamente antes do tempo 0. Os dados representam as médias \pm EPM. As barras horizontais na parte inferior do gráfico representam as médias do tempo máximo de exercício: preto: salina e em azul: metilotropina.

Efeito da microinjeção de metilatropina nos núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre a temperatura corporal.

O resultado apresentado na figura 15 mostra que a corrida de 24 m/min a 0% de inclinação (80% do VO_{2max}) até a exaustão aumentou a temperatura corporal tanto nos animais pré-tratados com a microinjeção bilateral de 0,2 μ L de NaCl (0,15M) quanto nos pré tratados com metilatropina (5×10^{-9} mol) nos núcleos ventromediais do hipotálamo. Os valores das temperaturas corporais nos tempos absolutos foram maiores no final do exercício em relação ao repouso sendo para os grupos SAL: $38,5 \pm 0,08$ °C, final vs $37,5 \pm 0,08$ °C ($p \leq 0,05$) e MATR: $38,1 \pm 0,1$ °C, final vs $37,5 \pm 0,1$ °C, inicial ($p \leq 0,05$). Entretanto o aumento observado no grupo pré-tratado com metilatropina ocorreu em um tempo 46% menor quando comparado ao grupo salina ($43,8 \pm 2,9$ min SAL vs. $23,4 \pm 2,0$ min MATR, $p \leq 0,001$). Quando os valores das temperaturas corporais dos grupos pré-tratados com metilatropina e com salina foram comparados em função do percentual do tempo total de exercício a 24 m/min a 0% de inclinação (80% do VO_{2max}) até a exaustão, não foram observados diferenças de comportamento entre os dois grupos experimentais. No entanto, quando se analisa o incremento de temperatura durante a atividade física em relação ao valor imediatamente anterior ao exercício (tempo 0) e em função ao percentual do TTE, observa-se menor variação da temperatura corporal nos animais do grupo MATR comparado aos do grupo SAL: 25% ($-0,06 \pm 0,1$ °C, MATR vs $0,27 \pm 0,1$ °C; SAL $p \leq 0,05$); 50% ($-0,01 \pm 0,08$ °C, MATR vs $0,34 \pm$

0,1 °C; SAL $p \leq 0,05$); 75% ($0,09 \pm 0,09$ °C, MATR vs $0,5 \pm 0,1$ °C; SAL $p \leq 0,05$)
e 100% ($0,10 \pm 0,13$ °C, MATR vs $0,60 \pm 0,1$ °C; SAL $p \leq 0,05$) (Fig. 15c).

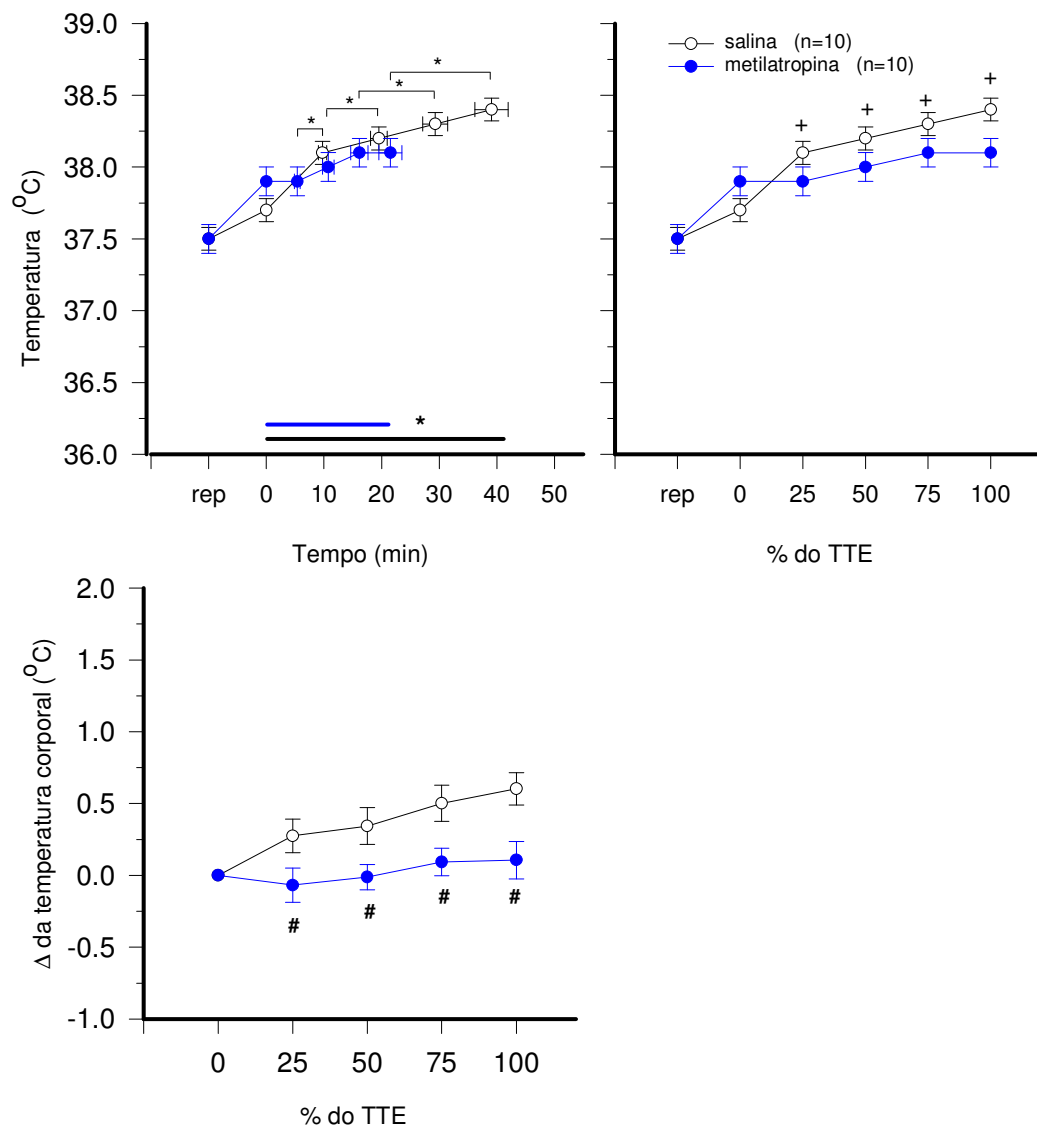


Fig. 15 - Efeito da microinjeção bilateral de 0,2 μ L de NaCl (0,15 M) ou de metilatropina (5×10^{-9} mol) nos núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre a temperatura corporal de ratos correndo até a exaustão em uma esteira rolante a 24 m/min a 0% de inclinação (80% do VO_{2max}). **(A)** valores da temperatura corporal em função do tempo absoluto do exercício; * $p \leq 0,001$ em relação ao grupo salina. **(B)** valores da temperatura corporal em função do percentual do tempo total do exercício (TTE); + $p \leq 0,05$ em relação ao tempo 0. **(C)** mostra os

valores do incremento da temperatura durante o exercício em relação aos valores imediatamente antes do tempo 0. # $p \leq 0,05$ em relação ao grupo salina. Os dados representam as médias \pm EPM. As barras horizontais na parte inferior do gráfico representam as médias do tempo máximo de exercício: preto: salina e em azul: metilatropina.

Efeito da microinjeção de metilatropina nos núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre lactato plasmático.

O resultado apresentado na figura 16 mostra que a corrida de 24 m/min a 0% de inclinação (80% do VO_{2max}) até a exaustão promoveu um aumento dos níveis de lactato plasmático tanto nos animais pré-tratados com a microinjeção bilateral de 0,2 μ L de NaCl (0,15M) quanto nos pré-tratados com metilatropina (5×10^{-9} mol) nos núcleos ventromediais do hipotálamo. Este aumento foi significativo quando os animais completaram 25% do tempo total de exercício ($4,0 \pm 1,3$ mM aos 10,5 min, SAL vs. $4,8 \pm 0,9$ aos 5,8 min MATR) permanecendo acima dos valores prévios ao exercício até a exaustão ($4,14 \pm 1,0$ mM aos 43,8 min, SAL vs. $4,8 \pm 1,5$ aos 23 min MATR). Como pode ser observado na fig. 16A, houve deslocamento da curva do lactato para a esquerda determinada pelo pré-tratamento com a microinjeção bilateral de metilatropina quando comparado ao grupo salina ($p \leq 0,001$). Entretanto quando os valores de lactato do grupo pré-tratado com metilatropina são comparados com os da salina em função do percentual do tempo total de exercício, não foram observados diferenças entre os dois grupos.

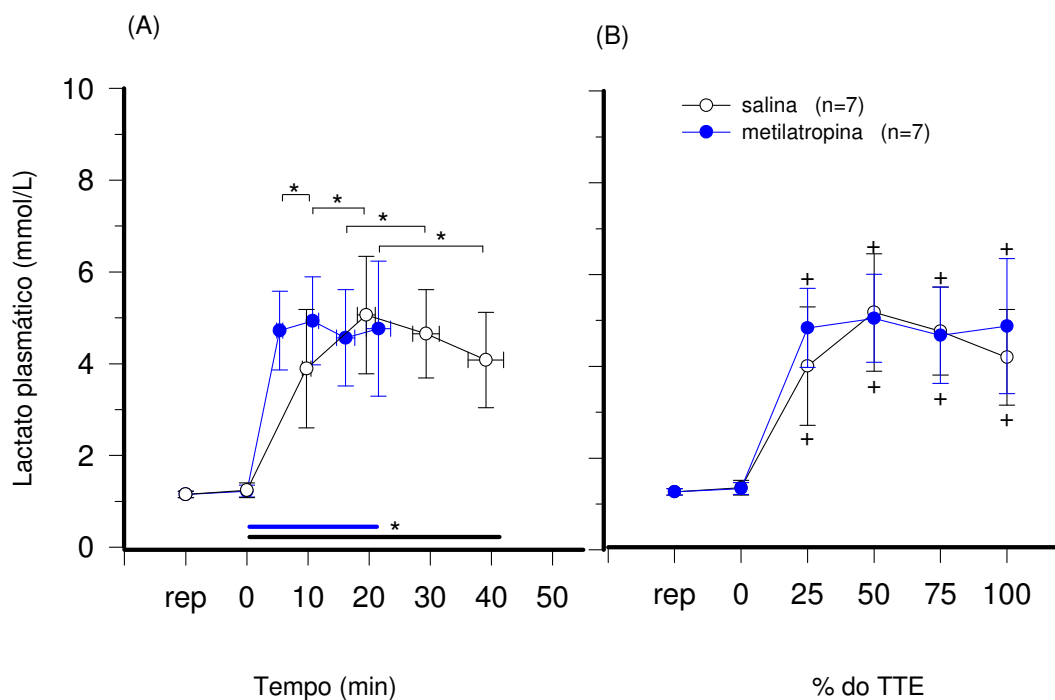


Fig. 16 - Efeito da microinjeção bilateral de 0,2 μL de NaCl (0,15 M) ou de metilotropina (5×10^{-9} mol) nos núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre a concentração de lactato plasmático de ratos correndo até a exaustão em uma esteira rolante a 24 m/min a 0% de inclinação (80% do $\text{VO}_{2\text{max}}$). **(A)** valores do lactato em função do tempo absoluto do exercício; * $p \leq 0,01$ em relação ao grupo salina. **(B)** valores do lactato em função do percentual do tempo total do exercício (TTE); + $p \leq 0,05$ em relação aos valores imediatamente antes do tempo 0. Os dados representam as médias \pm EPM. As barras horizontais na parte inferior do gráfico representam as médias do tempo máximo de exercício: preto: salina e em azul: metilotropina.

Efeito da microinjeção de metilatropina nos núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre glicose plasmática.

O resultado apresentado na figura 17 mostra que a corrida de 24 m/min a 0% de inclinação (80% do VO_{2max}) até a exaustão promoveu um aumento dos níveis de glicose plasmática nos animais pré-tratados com a microinjeção bilateral de 0,2 μ L de NaCl (0,15M) quanto nos com metilatropina (5×10^{-9} mol) nos núcleos ventromediais do hipotálamo. Este aumento foi significativo quando os animais completaram 75% do tempo total de exercício ($9,3 \pm 0,6$ mM aos 32,5 min, SAL vs. $9,1 \pm 0,4$ aos 17,5 min MATR) e próximo à exaustão, os valores da concentração de lactato tenderam ao prévio ao exercício. Como pode ser observado na fig. 17A, houve um deslocamento da curva glicêmica para a esquerda determinada pelo pré-tratamento com a microinjeção bilateral de metilatropina quando comparado ao grupo salina ($p \leq 0,001$). Entretanto quando os valores da glicose do grupo pré-tratado com metilatropina são comparados com os do controle em função do percentual do tempo total de exercício, não foram observados diferenças entre os dois grupos.

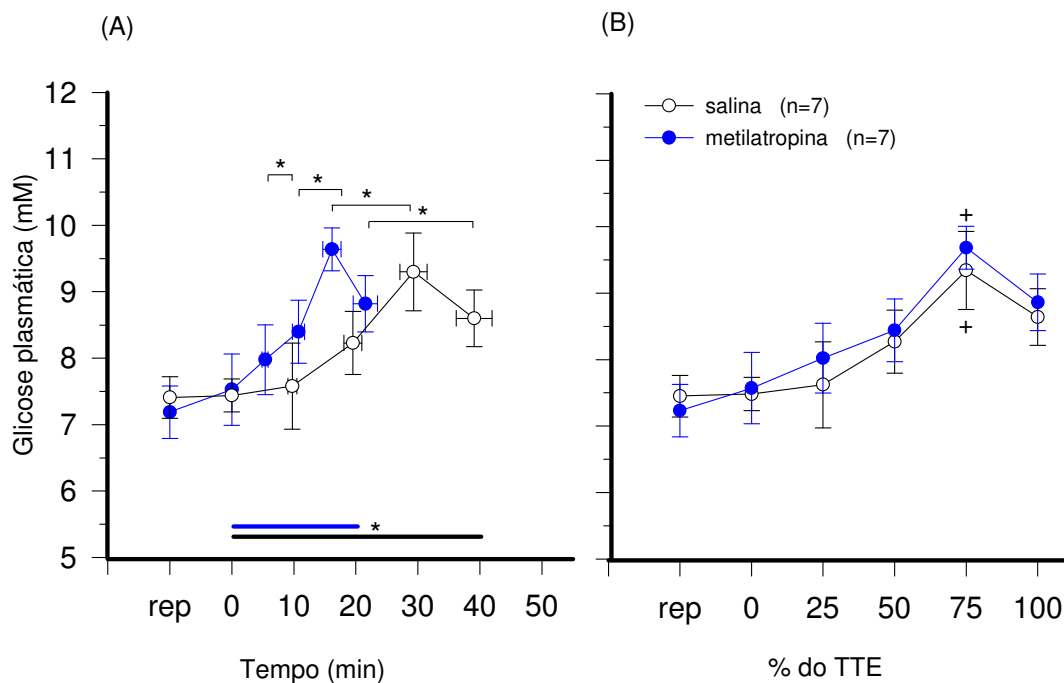


Fig. 17 - Efeito da microinjeção bilateral de 0,2 μ L de NaCl (0,15 M) ou de metilatropina (5×10^{-9} mol) nos núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre a concentração de glicose plasmática de ratos correndo até a exaustão em uma esteira rolante a 24 m/min a 0% de inclinação (80% do VO_{2max}). **(A)** valores da glicose em função do tempo absoluto do exercício; * $p \leq 0,01$ em relação ao grupo salina. **(B)** valores da glicose em função do percentual do tempo máximo do exercício (TTE); + $p \leq 0,05$ em relação aos valores imediatamente antes do tempo 0. Os dados representam as médias \pm EPM. As barras horizontais na parte inferior do gráfico representam as médias do tempo máximo de exercício: preto: salina e em azul: metilatropina.

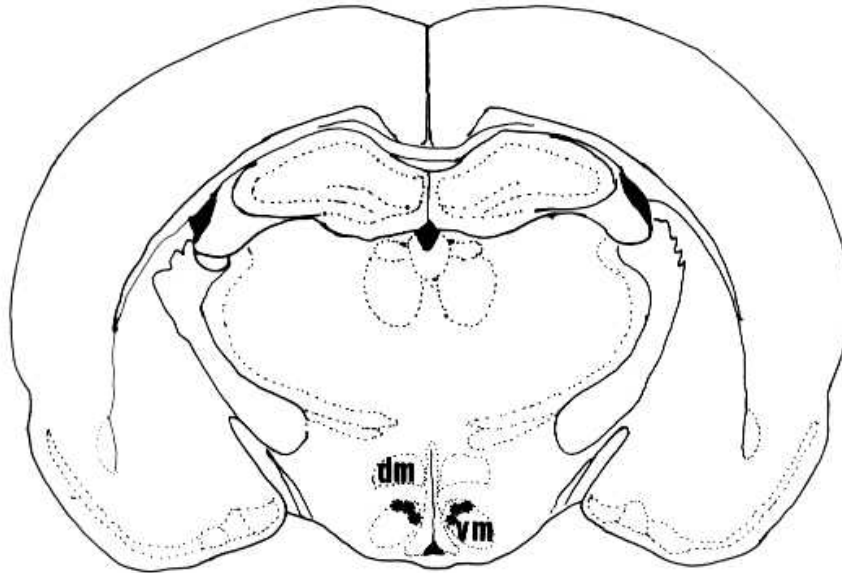


Fig. 18 – Representação esquemática de cortes de cérebros de ratos contendo os locais das seis microinjeções (extremidades distais das cânulas de microinjeções) identificadas por pequenos asteriscos. Os cortes frontais correspondem ao Atlas de Paxinos & Watson (1986). VM: núcleo ventromedial; DM: núcleo dorsomedial.

Discussão

Nossos resultados mostram que o bloqueio colinérgico muscarínico pela microinjeção bilateral de metilatropina nos núcleos ventromediais hipotalâmicos de ratos correndo em uma esteira rolante a 80% da sua capacidade aeróbia máxima (VO_{2max}) até a exaustão provocou uma redução significativa (~52%) do tempo total de exercício (Fig.3). Esta redução da capacidade máxima de exercício não está associada à alteração da taxa metabólica, pois a metilatropina não impediu que estes animais atingissem um VO_{2max} semelhante aos do grupo controle ou daqueles que não sofreram nenhuma intervenção cirúrgica quando submetidos ao teste de capacidade aeróbia máxima (Fig. 1). Os animais tratados com a metilatropina também foram capazes de desenvolver a mesma velocidade máxima apresentada pelos controles (Fig. 2) indicando que os limites máximos de transformação de energia pela via oxidativa não foram alterados. Esta resposta descarta também a possibilidade de, pelo menos no exercício progressivo, que o bloqueio colinérgico central tenha causado algum déficit motor aparente pois os dois grupos de animais correram em média 30m/min durante 15 minutos. Por sua vez, o gasto calórico total pelos animais MATR foi significativamente reduzido (41,3%) (Fig. 4) e é proporcional ao tempo total de exercício apresentado pelos mesmos. Este resultado mostra que o bloqueio colinérgico central não modificou a eficiência mecânica desses animais no que diz respeito à potência executada e a caloria gasta. A análise deste conjunto de dados indica que os neurônios colinérgicos do NVMH modulam a atividade física de animais correndo a 80% do VO_{2max} .

Lima e cols., 1998 mostraram que a microinjeção de atropina no ventrículo cerebral lateral reduziu a capacidade máxima de exercício em ratos não treinados. Esta resposta não estava associada à disponibilidade de

substrato energético uma vez que os níveis plasmáticos de glicose e de ácidos graxos livres estavam aumentados sugerindo que a injeção *icv* de atropina rompeu o ajuste do controle desses metabólitos pelo mecanismo de *feedback*, processo este observado nos animais controles. Entretanto, Rodrigues (2000) mostrou que a administração *icv* de fisostigmina, um agonista colinérgico, não modificou a capacidade máxima de exercício de ratos não treinados correndo na esteira rolante até a exaustão quando comparado ao grupo salina e estes resultados não corroboram com os de Mattew e cols.(1992) que registraram uma redução do TTE após a injeção intravenosa de fisostigmina. Esta diferença de resposta pode estar relacionada com o protocolo experimental desenvolvido pelos autores.

Durante todo os tipos de estresses e dentre eles a atividade física, já está bem estabelecido que há um aumento da atividade do sistema simpático adrenal resultando em um aumento das concentrações de adrenalina e noradrenalina no plasma (Galbo, 1983; Christensen & Galbo, 1983). Durante o exercício, toda noradrenalina presente no plasma origina das terminações nervosas do sistema nervoso simpático (SNS) enquanto que a adrenalina circulante é produzida pela medula das adrenais (Scheurink e cols. 1989) sugerindo uma dissociação funcional. Contudo, não ocorre uma dissociação completa pois a adrenalina circulante também estimula a liberação de noradrenalina por meio de adrenoceptor pré sináptico β_2 (Scheurink e cols. 1989).

Os nossos resultados mostram que ao final do exercício houve um aumento dos níveis sangüíneos de noradrenalina (Fig. 9) e de adrenalina (Fig. 10) em relação dos valores de repouso e ao início do exercício, confirmando

assim, os dados de Galbo (1983). O aumento da concentração de adrenalina nos ratos tratados com salina é devido ao aumento da atividade simpático adrenal desencadeado pelos impulsos originados nos músculos em atividade e/ou nos centros motores localizados no SNC (Galbo, 1992). O tratamento do NVMH com a metilatropina não impediu o aumento da concentração destas catecolaminas no plasma e a liberação das mesmas foi maior no grupo tratado com o antagonista colinérgico do que com a salina (Figs. 9 e 10).

Estudos em ratos indicam que a taxa de oxidação de carboidratos pelos músculos é elevada durante o exercício e deve-se a uma série de eventos coordenados que promovem o aumento do transporte de glicose, da fosforilação pela hexoquinase, glicogenólise e da glicólise (Richter e cols. 1982a).

É de conhecimento que o fígado desempenha um papel importante no fornecimento de substrato para a oxidação e produção de energia durante o exercício. O fígado previne a hipoglicemia induzida pela atividade física conseqüente a utilização de glicose pelos músculos esqueléticos. Em exercícios intensos e na fase final de exercícios moderados, o fígado fornece glicose principalmente pela glicogenólise, mas durante as atividades prolongadas prevalecem a gliconeogênese.

Leibowitz e cols. (1982) demonstraram a presença de receptores alfa adrenérgicos no NVMH e segundo Winder (1985), eles estariam envolvidos na glicogenólise hepática. Posteriormente, Scheurink e cols (1988) mostraram que os neurônios α adrenérgicos do NVMH são importantes na regulação do metabolismo periférico durante o exercício. Por outro lado, Vissing e cols (1989b) mostraram que a anestesia do NVMH promoveu uma diminuição dos

níveis de catecolaminas e da produção hepática de glicose em ratos submetidos a uma corrida durante 20 min, sugerindo a participação deste núcleo na regulação do metabolismo durante o exercício. Entretanto é discutida a importância da inervação simpática do fígado na mobilização de glicose durante o exercício (Sonne e cols. 1985; Wasserman e cols. 1990). Foi demonstrado em humanos com bloqueio do gânglio celíaco (Kjaer e cols. 1993) ou em cães com secção do nervo hepático (Wasserman e cols. 1990), que a inervação hepática não é necessária para a mobilização de glicose durante exercícios de baixa intensidade (Kjaer e cols. 1993) ou em intensidade moderada (Wasserman e cols. 1990).

Por sua vez, nossos resultados com os animais tratados com salina mostram um aumento das concentrações plasmáticas de adrenalina e de noradrenalina (Figs. 9 e 10), de glicose (Fig. 17) e corroboram com os dados obtidos por Sonne e cols. (1981). Segundo estes autores, a secreção de adrenalina está diretamente relacionada com a intensidade do exercício e com a concentração de glicose, sugerindo que a catecolamina aumenta a produção de glicose durante o exercício. Esta interpretação reforça os dados prévios em que ratos correndo a uma velocidade constante, num exercício moderado, os aumentos da glicemia foram observados nos animais intactos mas não nos adrenodemedulados (Rodrigues, 2000; Lima e cols. 1998; Richter e cols. 1981). Entretanto Marker e cols. (1986) mostraram que a catecolamina adrenal não é essencial para a glicogenólise hepática durante exercícios a altas intensidades mas desempenha um papel importante na glicogenólise muscular. De acordo com Carlson e cols (1985) os órgãos alvos para a adrenalina

liberada pelas medulas adrenais durante o exercício submáximo seriam as células β do pâncreas e o músculo esquelético e, não o fígado.

Nossos dados mostram que nos animais tratados com metilatropina no NVMH, as concentrações plasmáticas de catecolaminas e de glicose (Fig. 17) estavam aumentadas sugerindo que o bloqueio das aferências colinérgicas do núcleo ventromedial não impediu o aumento das descargas simpáticas para o fígado. Além disso, este aumento da atividade simpática induzida pela metilatropina provocou uma antecipação da resposta metabólica (Figs. 17), isto é, um deslocamento para a esquerda na curva de evolução da glicemia. Este fato nos leva a supor que o fornecimento de substrato energético, em especial a glicose, acompanhou o “falso” aumento da intensidade de exercício. A análise destas respostas mostra que no momento da fadiga, os parâmetros metabólicos dos animais tratados com a MATR são semelhantes aos do grupo salina durante todo o tempo do exercício, inclusive no momento da fadiga porém antecipados em 46%.

Segundo Kjaer e cols. (1998) uma diminuição nos níveis plasmáticos de insulina é importante para o aumento na produção hepática de glicose. Foi demonstrado em cães que a diminuição da secreção de insulina (Wasserman e cols. 1989a) e um aumento do glucagon (Wasserman e cols. 1989b) é importante para a produção hepática de glicose durante o exercício. Estes autores sugeriram que a glicogenólise seria devida ao aumento da concentração de glucagon e diminuição dos níveis de insulina, mas durante exercícios prolongados haveria aumento de precursores da gliconeogênese favorecendo este processo pelo fígado como resultado da ação do glucagon (Wasserman e cols. 1989b).

Sabe-se que a estimulação β adrenérgica ou a presença de glucagon ativam a adenilciclase, que via AMPc, promovem a ativação da enzima fosforilase a que hidrolisa o glicogênio hepático resultando em maior liberação de glicose. Entretanto, Winder e cols. (1979) mostraram em ratos que durante o exercício a glicogenólise hepática pode ocorrer independentemente de um aumento na concentração de AMPc. Segundo estes autores, o aumento na concentração de AMPc só ocorre após a depleção de glicogênio hepático e deve-se a elevada concentração plasmática de catecolaminas e de glucagon, importantes no processo da gliconeogênese para manter a glicemia. Por outro lado, Exton e cols (1980) mostraram em ratos que os íons cálcio intracelulares podem mediar os efeitos α adrenérgicos das catecolaminas provavelmente por um efeito alostérico sobre a fosforilase quinase contribuindo assim para a glicogenólise hepática.

A captação de glicose pelos músculos está relacionada com a intensidade e a duração do exercício (Wahren e cols. 1971). Quando a intensidade do exercício ultrapassa 70 a 80% do VO_{2max} , a concentração sangüínea de glicose aumenta (Kjaer e cols 1991; 1986) indicando que o fornecimento deste carboidrato aumenta acentuadamente com a intensidade do exercício e estabelece condições para aumentar o transporte de glicose para os músculos em atividade.

Durante o exercício, o fluxo sangüíneo muscular aumenta devido ao aumento do débito cardíaco e também pela vasodilatação local. O aumento do fluxo sangüíneo é essencial para o fornecimento da glicose para os músculos ativos e, dentro de certos limites, está diretamente relacionado com a intensidade do trabalho (Andersen & Saltin, 1985). Embora a transferência de

glicose e de insulina para os músculos ativos seja conseqüente ao aumento do fluxo sangüíneo, o fator local como a presença de transportadores de glicose no sarcolema também desempenha papel importante neste processo.

No início de um exercício intenso a glicose pode ser liberada pelos músculos em contração provavelmente devida a rápida glicogénólise (Richter e cols. 1998, Wahren e cols., 1975) e associada à glicose transportada para os músculos ocorre um aumento deste carboidrato dentro da célula e excede a capacidade de fosforilação pela hexoquinase principalmente devido à alta concentração intramuscular de glicose 6 fosfato (G~6P). Tem se postulado que durante a fase inicial do exercício a fosforilação da glicose é a fase limitante da captação da mesma porque a concentração relativamente alta de glicose 6 fosfato inibe a hexoquinase (Katz e cols. 1991).

Têm se mostrado que o transporte de glicose para os músculos é estimulado pela contração (Hirshman e cols. 1988; Ploug e cols. 1987; 1984; Richter e cols. 1985) e pela insulina (Sternlicht e cols. 1989) e ambos aumentam o número de transportadores de glicose (GLUT4) no sarcolema (Douen e cols. 1990; Hirshman e cols. 1990; Wallber-Henriksson e cols. 1988; Ploug e cols. 1987). Foi postulado que durante o exercício, o aumento no recrutamento de GLUT4 para o sarcolema seria secundário ao aumento da concentração de insulina conseqüente ao elevado fluxo sangüíneo a nível dos músculos ativos (Hayashi e cols. 1997). Contudo experimentos utilizando contração muscular *in situ* e na ausência de insulina mostraram que o número de GLUT4 está aumentado como ocorre durante o exercício *in vivo* (Gao e cols. 1994; Goodyear e cols. 1990). Estes dados mostram que em ratos, a contração muscular pode recrutar transportadores de glicose para o sarcolema

independente da insulina, confirmando a hipótese que a presença deste hormônio não é necessária para aumentar a captação de glicose durante a contração muscular (Richter e cols. 1985; Ploug e cols. 1984).

Wallberg-Henriksson e cols. (1988) postularam a existência de 2 “pools” intracelulares de GLUT4 distintos: um, para a insulina e outro, ao exercício e, evidências experimentais mostraram que os dois estímulos promovem a translocação destes transportadores para o sarcolema (Hirshman e cols. 1990; 1988; Goodyear e cols. 1991; 1990). Utilizando-se de técnicas de fracionamentos subcelulares para isolar as membranas: plasmática e a intracelular foi demonstrada que a associação contração muscular e insulina aumentam a atividade dos transportadores de glicose na membrana plasmática (Goodyear e cols. 1990; Douen e cols.1990). Posteriormente, Gao e cols. (1994) analisaram pelo “western blot” o conteúdo de GLUT4 na fração correspondente ao sarcolema e constataram que os efeitos da insulina e do exercício sobre a translocação dos referidos transportadores para o sarcolema são aditivos. Por sua vez, foi demonstrado que a translocação de GLUT4 para o sarcolema em resposta à insulina (Lee e cols. 1995) ou ao exercício (Lund e cols. 1995) ocorrem por mecanismos distintos. Kristiansen e cols (1997) mostraram que o transporte de glicose através do sarcolema e o número de transportadores aumentam durante o exercício sub máximo (75% do VO_{2max}). De acordo com Hespel e cols. (1996) os principais fatores que modificam a captação de glicose pelos músculos ativos seriam o fluxo sanguíneo, a insulina e a contração per se.

Nossos resultados sugerem que a metilatropina administrada nos NVMH não bloqueou a atividade simpática, comprovada pela alta concentração de

noradrenalina (Fig. 9). É provável que ela tenha participado na produção de glicose pelo fígado, sendo esta captada pelos músculos em atividade. Embora a concentração plasmática de glicose esteja aumentada nos dois grupos de animais (Fig. 17), nosso modelo experimental não permite afirmar se houve maior produção hepática de glicose ou uma menor captação da mesma pelos músculos em atividade. Por sua vez, podemos postular que nos animais tratados com SAL, a contração muscular tenha favorecido o recrutamento de GLUT4 no sarcolema favorecendo o fornecimento de glicose para os músculos ativos.

O nível plasmático de lactato fornece um índice de glicogenólise muscular e da intensidade de exercício e, sua concentração no plasma depende de sua liberação pelos músculos em atividade (Issekutz, 1984) e da sua captação pelos músculos e fígado (Consoli e cols., 1990; Stanley e cols. 1986).. Há evidências que os níveis circulantes de catecolaminas (Mazzeo e cols., 1991; Stainsby e cols., 1984) e de glucagon (Wasserman e cols. 1989b; Galbo e cols., 1976) que estão aumentados durante o exercício (Mazzeo e cols., 1991; Galbo e cols., 1976) possam estar relacionados com o aumento da concentração de lactato no plasma.

Nossos dados mostram que além das catecolaminas (Figs 9 e 10), da glicemia (Fig. 17) o nível plasmático de lactato também estava aumentado (Fig. 16) e coincidem com os dados de Sonne e cols (1981). O tratamento do NVMH com a metilatropina não impediu o aumento da concentração de lactato (Fig. 16) indicando que o antagonista colinérgico não bloqueou a glicogenólise muscular. Lima e cols. (1998) mostraram que em um exercício moderado, o aumento da concentração plasmática de lactato só foi observado nos animais

intactos mas não nos adrenodemedulados, sugerindo que as catecolaminas circulantes foram responsáveis pela lactacidemia e coincide com os dados de Arnall e cols. (1986).

É de conhecimento que durante o exercício de altas intensidades a adrenalina via receptor β adrenérgico estimula a glicogenólise muscular (Spriet e cols. 1988; Richter e cols. 1982a; Galbo e cols. 1976) e, Stainsby e cols (1984) demonstraram em cães que a infusão de adrenalina promoveu um aumento na liberação de lactato pela contração do músculo gastrocnêmio.

O ácido láctico resultante da glicólise e da glicogenólise tem um pK baixo (3,9) e em pH fisiológico dissocia-se completamente em íons H^+ e lactato e o músculo tem uma capacidade limitada de tamponamento. Assim, o ácido láctico formado nos músculos deve ser rapidamente removido para evitar a acidificação e a fadiga muscular (Roth, 1991).

Segundo Wasserman e cols (1987), devido ao seu baixo pK o ácido láctico estará mais na forma dissociada e será efetivamente neutralizado pelo sistema tampão bicarbonato e devido à natureza volátil do componente ácido ele será rapidamente eliminado pelos pulmões, diminuindo assim a concentração de ácido carbônico no sangue.

A acidose metabólica intramuscular conseqüente ao aumento da glicólise também pode contribuir para a redução da atividade física. Foi demonstrado também que o aumento da concentração de íons hidrogênio pode comprometer o desenvolvimento de tensão (Metzger & Moss, 1987) e/ou reduzir a glicogenólise muscular inibindo a atividade da fosfofrutoquinase e/ou da fosforilase (Spriet e cols. 1989).

Nossos dados mostram que, embora a concentração de lactato sangüíneo esteja aumentada nos dois grupos experimentais (Fig. 16), os animais puderam compensar este aumento por meio de um tamponamento respiratório, comprovado pela diminuição dos níveis plasmáticos de bicarbonato (Fig. 5) e diminuição da pressão parcial de CO₂ (Fig. 7) e no conteúdo de CO₂ no sangue (Fig. 8) e desta forma mantiveram o pH sangüíneo (Fig. 6). Portanto nossos dados mostram que a diminuição da concentração de bicarbonato sangüíneo representa a compensação respiratória para a acidose metabólica.

Ao analisarmos o sistema de tamponamento do plasma de animais tratados com metilatropina ou com salina, observamos que o pH é mantido estável mesmo no momento da fadiga (Fig. 6). Este conjunto de resultados (Figs 5, 6, 7 e 8) sugere que a exaustão apresentada pelos ratos controles ou daqueles tratados com a metilatropina não foi devida a acidose metabólica.

Por sua vez, o exercício requer ajustes cardiovasculares para manter o transporte de oxigênio aos músculos em atividade. No início do exercício dinâmico, o comando central e impulsos aferentes dos músculos em exercício constituem o modelo básico da atividade simpática e de acordo com a potência relativa do exercício, o aumento da atividade simpática é da maior importância para o ajuste das respostas cardiovascular, hormonal e metabólica além da termorregulação e do desempenho muscular. No início do exercício há um aumento imediato da frequência cardíaca e da ventilação acompanhados por aumentos do fluxo sangüíneo nos músculos esqueléticos e da atividade simpática que inervam outros leitos vasculares, como os rins (O'Hagan e cols. 1997). Estas alterações cardiovasculares e respiratórias que ocorrem no início

do exercício são determinadas pelo comando central (Goodwin e cols., 1972). Portanto, sinais oriundos de regiões corticais determinam o padrão de ativação de eferências simpáticas ao coração e aos vasos sanguíneos. No decorrer do exercício, impulsos provenientes de múltiplos receptores periféricos informam aos centros nervosos simpáticos as diferenças na pressão intravascular, concentração plasmática de glicose, tensão tecidual de oxigênio, temperatura corporal e possivelmente, o desempenho mecânico que reflexamente ativam a área de controle cardiovascular. Estas adaptações cardiovasculares durante o exercício dependem da intensidade, da duração e do tipo de exercício (Rowell & O'Leary, 1990).

Durante a fase inicial dos ajustes circulatórios quando o animal muda do repouso para o exercício, o fluxo sanguíneo muscular aumenta drasticamente mas há pouca alteração na pressão arterial média (PAM) (Armstrong & Laughlin, 1983).

É de conhecimento que o fluxo sanguíneo para qualquer tecido é governado pela pressão de perfusão e a resistência vascular ao mesmo. Como as pressões arterial média e a venosa são normalmente mantidas dentro de limites estreitos, o controle do fluxo sanguíneo é feito pelas variações da resistência vascular (Delp & Laughlin, 1998). Além da atividade simpática, a resistência vascular também varia de acordo com o nível de hormônios vasoativos circulantes e de fatores locais, como os metabólitos e os endoteliais (Delp & Laughlin, 1998). Nos músculos esqueléticos em repouso, o fluxo sanguíneo é baixo comparado ao dos tecidos coronarianos ou ao visceral devido ao alto tônus vasomotor que são determinados pela atividade miogênica vascular e alta atividade do nervo simpático (Laughlin & Armstrong, 1985).

Portanto, a resposta cardiovascular ao exercício é caracterizada por um aumento na pressão arterial que é importante para manter o fluxo sanguíneo para as áreas críticas como o coração e o cérebro, bem como, para satisfazer as necessidades dos músculos em atividade. A diminuição da resistência periférica é devida a vasodilatação em resposta aos metabólitos liberados pelos músculos ativos mas o aumento da pressão arterial é devido ao aumento do débito cardíaco (McArdle e cols., 1996). Para efetuar estes ajustes, a P.A. precisa ser continuamente regulada pelas áreas cardiovasculares centrais através de uma interação complexa entre os sinais provenientes dos quimio e de mecanorreceptores localizados nos músculos ativos e dos barorreceptores arteriais e também pelo comando central.

O papel da acetilcolina central sobre a atividade cardiovascular ainda é discutido. Dependendo da via de administração e da espécie animal, a Ach pode produzir tantos efeitos pressores (Brezenoff & Rusin, 1974; Bhawe, 1958) quanto hipotensores (Armitage & Hall, 1967). Brezenoff (1972) mostrou que a administração de carbacol no NVMH de ratos anestesiados desencadeou uma resposta pressora e aumento da frequência cardíaca indicando a participação de sistema colinérgico hipotalâmico na modulação da P.A. e da frequência cardíaca. Krsić & Djurković (1978) mostraram que a injeção *icv* de acetilcolina em ratos anestesiados produziu uma resposta pressora que foi abolida após a transecção da medula espinhal indicando que a resposta era de origem central. Os autores concluíram ainda que a resposta pressora da Ach resultava da ativação de receptores muscarínicos centrais que promovem a ativação dos gânglios simpáticos e da medula adrenal. Por sua vez, foi demonstrado que a administração de neostigmina ou de fisostigmina, inibidores da

acetilcolinesterase, evoca uma resposta pressora mediada centralmente quando estes agentes são administrados tanto por via icv (Buccafusco & Brezenoff, 1979; Brezenoff & Rusin, 1974) ou em regiões específicas do cérebro (Haruta e cols. 1992; Criscione e cols., 1983).

Haruta e cols. (1992) demonstraram em ratos anestesiados que a neostigmina injetada no hipocampo promoveu um aumento de PA e bradicardia e estas respostas foram abolidas pela metilatropina, sugerindo a participação de neurônios colinérgicos muscarínicos. Estes autores sugeriram ainda que a resposta pressora era mediada pelo aumento da atividade simpática ao coração e aos vasos sangüíneos, enquanto que, o sistema parassimpático era responsável pela bradicardia. Evidências experimentais mostraram que a depleção de catecolaminas ou o bloqueio de receptores α adrenérgicos podem inibir a resposta pressora causada pela inibição colinérgica (Brezenoff & Giuliano, 1982). Por outro lado, Valladão e cols (1990) mostraram em ratos conscientes a existência de uma interação entre as vias colinérgicas e a adrenérgica do núcleo ventromedial na regulação da atividade cardiovascular e, que receptores α_1 e β adenérgicos estariam envolvidos nas respostas pressora e na taquicardia produzidas pela estimulação colinérgica do referido núcleo.

Por outro lado, a freqüência cardíaca é controlada pelo balanço entre o sistema nervoso simpático e o parassimpático atuando sobre a freqüência de descarga do marca passo nó sinoatrial. Segundo Victor e cols (1987), em humanos, o aumento da F.C. na fase inicial do exercício deve se a remoção do tônus vagal, um ajuste autonômico mediado pelo comando central do que pelos quimiorreceptores musculares. De acordo com Dicarlo & Bishop (1992), o

comando central contribuiria para a resposta simpático excitatória no início do exercício deslocando o “*set point*” do barorreflexo arterial para um nível mais alto de pressão modulando a resposta dos neurônios barossensíveis no núcleo do trato solitário a aferências dos barorreceptores.

Durante a atividade física, frequência cardíaca (F.C.) aumenta devido à diminuição da atividade parassimpática e um aumento da simpática ao coração (O’Leary, 1993). Esta alteração na F. C. durante o exercício pode ser, em parte, devida a ativação dos metaborreflexos musculares, uma resposta pressora desencadeada pelo acúmulo de metabólitos no interior dos músculos em contração (O’Leary, 1993; Rowell & O’Leary, 1990).

Nossos dados mostram que o exercício aumentou as pressões sistólica, diastólica e a média e a frequência cardíaca tanto nos animais controle quanto nos tratados com metilatropina sugerindo que o bloqueio colinérgico do NVMH não modificou as respostas cardiovasculares. Entretanto, a análise destes parâmetros cardiovasculares (FC, PS PD e PAM) em relação ao percentual do tempo total de exercício dos animais tratados com metilatropina, não apresenta variações significativas nos seus valores quando comparado ao grupo controle. Contudo, os valores máximos de todos os parâmetros ocorreram em um tempo de exercício percentualmente menor, já que a duração do exercício foi muito diferente nos dois grupos. Portanto o bloqueio colinérgico central provocou uma antecipação nos valores máximos da frequência cardíaca, das pressões sistólica, diastólica e média dos animais durante um exercício a 80% do VO_{2max} até a exaustão.

Na exaustão, a frequência cardíaca dos animais tratados com salina ou com metilatropina está aumentada e pode ser devida ao aumento da temperatura corporal (Gollnick & Ianuzzo, 1968).

Evidências experimentais sugerem uma ação facilitadora das catecolaminas centrais na termorregulação mediada por α_1 e α_2 adrenoreceptores (Myers, 1987) e os aumentos da temperatura corporal, taxa metabólica e da atividade do tecido adiposo marrom são dependentes da liberação de catecolaminas pelo hipotálamo.

Antes, durante e após o exercício a temperatura corporal (T_c) do rato é mais alta do que em repouso. O aumento na T_c prévio ao exercício é uma hipertermia emocional ou uma resposta antecipatória (Briese, 1998). Na contração muscular aproximadamente 25% da energia química é convertida em trabalho mecânico, sendo o restante convertido em calor (Briese, 1998). Para manter a mesma temperatura corporal este calor deve ser dissipado e ocorre um retardo entre a produção e a dissipação de calor levando ao aumento da T_c concomitante com o exercício. Por sua vez, tanto a produção quanto a dissipação de calor durante o exercício depende de muitos fatores e o aumento da T_c do animal é variável. Portanto, é difícil saber se o aumento da temperatura corporal durante o exercício é devido ao aumento no nível do “*setpoint*” ou se ocorre passivamente pelo indesejável acúmulo de calor (Briese, 1998).

A hipertermia seja ela causada pelo ambiente ou exercício pode ser fatal e para protegê-la contra esta possibilidade, todos os animais desenvolveram um mecanismo de perda de calor. A cauda do rato é bem adaptada para esta função pois é desprovida de pêlos e é bem vascularizada além de apresentar

uma grande superfície em relação ao seu volume (Gordon, 1990). Os ratos podem dissipar através da cauda 20% do calor produzido pelo seu metabolismo basal (Young & Dawson, 1982; Rand e cols. 1965), sendo este efeito mediado centralmente através da inibição da descarga simpática para a artéria da cauda (Johnson & Gilbey, 1994; O'Leary e cols. 1985). Segundo Thompson & Stevenson (1965) as porções distais de suas patas são bem vascularizadas e sofrem vasodilatação em resposta ao aumento da temperatura central quando esta atinge o valor de 39,3 °C.

Quando analisamos o comportamento da curva da temperatura corporal do grupo de animais que recebeu o tratamento de metilatropina verificamos que ela se comporta de forma semelhante ao grupo controle quando ela é analisada de forma relativa ao tempo total de exercício. Em um ambiente semelhante, o aumento da temperatura vai depender da quantidade de calor produzido, que no nosso caso foi menor no grupo metilatropina porque o tempo total de exercício foi menor; portanto, o bloqueio colinérgico central modificou a capacidade termorreguladora dos animais em exercício, fazendo com que eles realizassem a mesma potência e, num ambiente semelhante, atingissem a mesma temperatura corporal interna, na metade do tempo de exercício (Figs 15 A, B). Por sua vez, podemos sugerir que o tratamento com o antagonista colinérgico não alterou o valor do “*setpoint*” hipotalâmico, uma vez que, estes animais chegaram à fadiga com a mesma temperatura corporal que a dos tratados com salina (15A).

A injeção *icv* de acetilcolina e outros agonistas dos receptores colinérgicos como o carbacol, pilocarpina produziram hipotermia em várias espécies animais (Lin e cols., 1980; Chawla e cols., 1975; Lomax & Jenden,

1966). A microinjeção de Ach nos centros termorreguladores hipotalâmicos aumenta a frequência de descarga neuronal e promove hipotermia (Knox e cols., 1973; Lomax & Jenden, 1966). Foi demonstrado em ratos que administração *icv* de colina, precursor da acetilcolina produziu uma resposta hipotérmica dose-dependente, sendo o efeito bloqueado pela atropina indicando a participação de receptores muscarínicos (Unal e cols., 1998). Estes dados farmacológicos junto com os resultados obtidos por imunohistoquímica demonstrando a presença de neurônios colinérgicos no hipotálamo sugerem que os mesmos estão envolvidos na termorregulação (Tago e cols., 1987).

Sabe-se que durante o exercício a temperatura corporal está relacionada com a intensidade do exercício, e experimentos realizados em nosso laboratório mostraram que a fisostigmina atenuou o aumento da temperatura colônica durante o exercício, tanto nos ratos intacto ou nos adrenodemedulados (Rodrigues e cols. 2.000). É provável que o agonista colinérgico tenha favorecido a dissipação de calor.

A área preóptica é a principal região termointegradora nos mamíferos uma vez que os neurônios respondem tanto às alterações locais quanto às informações oriundas da periferia (Boulant & Hardy, 1974). Beckmam & Carlisle (1969) mostraram que a microinjeção bilateral de acetilcolina na área preóptica (APO) ou no hipotálamo anterior (HA) promoveu uma diminuição da temperatura hipotalâmica local acompanhada de um decréscimo na produção de calor na periferia. Posteriormente, Meeter (1971) demonstrou em ratos que a injeção *icv* de carbacol promoveu hipotermia mediada pelo deslocamento do “*setpoint*” do termostato hipotalâmico, vasodilatação e diminuição do

metabolismo hepático, sendo esta resposta hipotérmica mediada pelos receptores muscarínicos.

Estudos anatômicos de Conrad & Pfaff (1976 a,1976b) mostraram a presença de conexões eferentes da APO para o núcleo ventromedial e segundo Dean & Boulant (1989) as células termossensíveis encontradas nas áreas diencefálicas, além da APO, estão envolvidas no processo da termorregulação. Thornhil e cols, (1994) demonstraram que a termogênese induzida pela estimulação da APO medial requer a integridade funcional do NVM. Estes autores sugeriram ainda que o NVM estaria envolvido nas respostas pressora e na taquicardia evocada pela estimulação da referida área.

Durante o exercício, a medida do consumo de oxigênio é um indicador da termogênese. Então a queda na temperatura colônica durante o exercício poderia indicar que o calor está sendo perdido em maior taxa do que no repouso.

Nossos dados mostram que o consumo máximo de oxigênio dos animais tratados com MATR não foi diferente daqueles sem intervenção cirúrgica ou dos tratados com SAL (Fig. 1). Entretanto, a análise da curva de evolução do incremento de temperatura corporal em relação ao valor imediatamente anterior ao exercício e em função do TTE mostra que os animais tratados com a MATR apresentaram uma variação significativamente menor em relação ao grupo controle (Fig. 15C). Estes resultados sugerem que os animais MATR apresentaram uma maior dissipação de calor, uma vez que a taxa metabólica entre os dois grupos experimentais não é diferente, isto é, mesmo VO_{2max} .

Os processos que levam à interrupção de uma determinada atividade podem ocorrer dentro de uma seqüência de eventos a partir de centros

motores localizados no SNC até o fornecimento de energia e interações entre a actina e miosina na fibra muscular (Enola & Stuart, 1992). Recentemente, surgiram evidências sobre a participação de neurotransmissores como a serotonina, dopamina e a acetilcolina na determinação da capacidade de suportar um exercício (Bailey e cols., 1993; Davis, 1995; Davis & Bailey, 1997). Alterações das atividades serotoninérgicas no SNC podem afetar tanto processos de termorregulação (Morishima & Shibano, 1994; Lin e cols., 1998) como também a atividade do sistema simpático-adrenal (Bagdy e cols., 1989). De acordo com Bailey e cols. (1993) experimentos utilizando drogas que causam modificações da atividade serotoninérgica no SNC de ratos em exercício afetaram o tempo de exercício aumentando-o ou diminuindo-o e este resultado pode estar relacionado com a interação entre serotonina e a dopamina. Considerando-se o processo de interação entre a acetilcolina com a dopamina e a serotonina, é provável que a administração de metilatropina nos núcleos ventromediais tenha causado alteração das concentrações destes neurotransmissores e tenha determinado uma alteração na capacidade de suportar o estresse provocado pelo exercício. Nossos dados mostram que a administração bilateral de metilatropina nos núcleos ventromediais do hipotálamo levou a uma drástica redução no tempo total de exercício em ratos não treinados (Fig. 3).

Conclusão

Concluindo, nossos dados mostram que as terminações colinérgicas do núcleo ventromedial modulam a atividade simpática durante o exercício. O bloqueio colinérgico do NVMH reduziu em 50% a capacidade máxima de exercício em ratos não treinados, mostrando de forma clara que neurônios colinérgicos dos núcleos ventromediais hipotalâmico modulam a atividade física de ratos correndo a 80% do VO_{2max} . Por outro lado, o bloqueio colinérgico dos núcleos ventromediais antecipou em 50% do tempo máximo de exercício o aumento das concentrações de glicose e de lactato e aumentou também os valores da pressão arterial, frequência cardíaca. O bloqueio colinérgico dos núcleos ventromediais atenuou o aumento da temperatura corporal induzida pelo exercício.

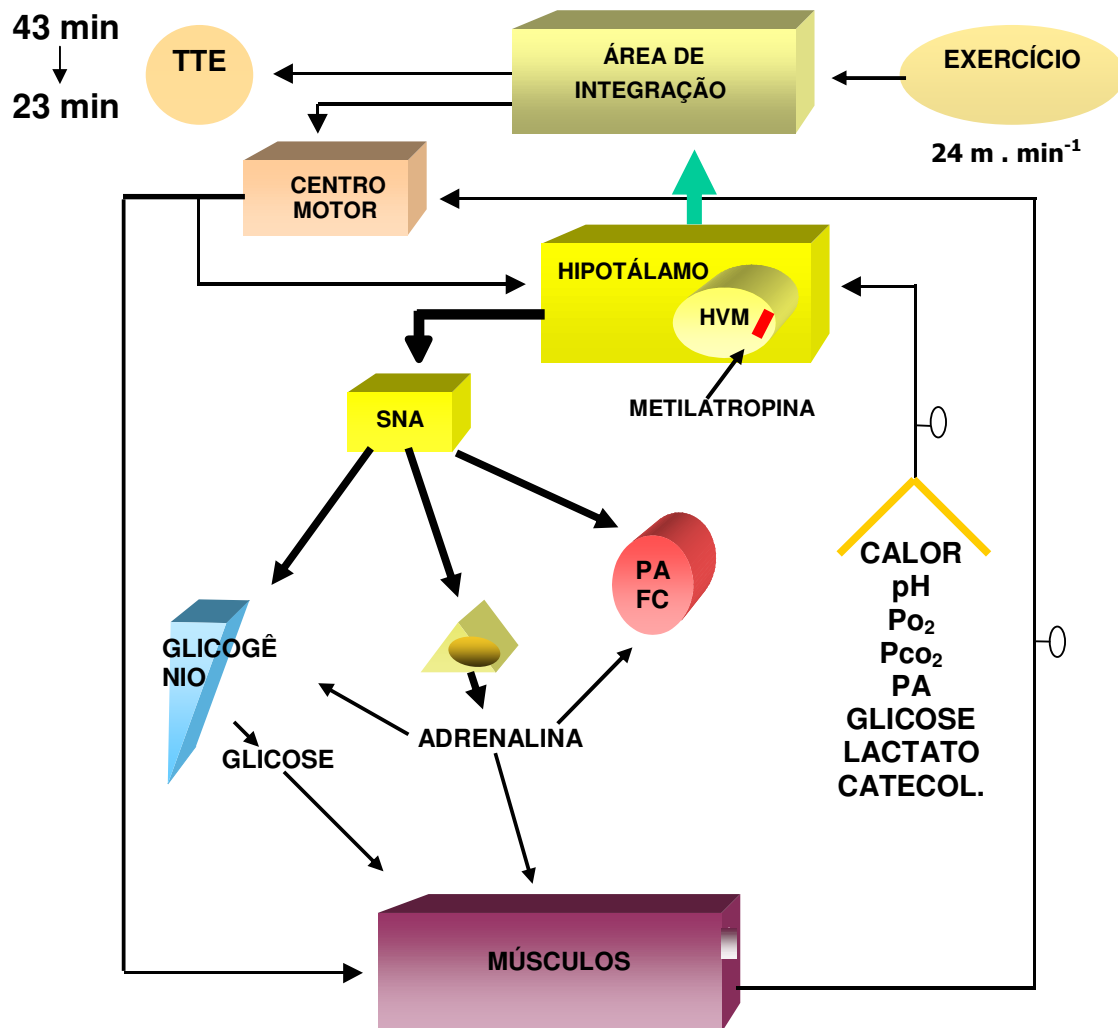


Fig. 19 Mostra o provável mecanismo sobre os efeitos do bloqueio colinérgico ($0,2\mu\text{L}$ de metilatropina 5×10^{-9} mol) do VMH de ratos correndo em uma esteira rolante a $24 \text{ m} \cdot \text{min}^{-1}$ (80% do $\text{VO}_{2 \text{ max}}$) até a exaustão.

Referências Bibliográficas

- Andersen, P. H., and B. Saltin.** Maximal perfusion of skeletal muscle in man. *J. Physiol (London)*, 366: 233-249, 1985.
- Almeida-Silva, S., N. R. V. Lima, U. Marubayashi, and L. O. C. Rodrigues.** Influência das catecolaminas adrenais na capacidade máxima de exercício em ratos não treinados. *Livro de Resumos da XII Reunião Anual da FeSBE*, 04.039, 257, 1997, Caxambu, M.G., Brasil.
- Anton, H. A., and F. D. Sayre.** A study of the factors affecting the aluminum oxid-trihydroxyndole procedure for the analysis of catecholamines. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 138: 360-375, 1962.
- Armitage, A. K., and Hall, G.H.** Effect of nicotine on the systematic blood pressure when injected into the cerebral ventricles of cats. *Int. J. Neuropharmac.* 6: 143-9, 1967.
- Armstrong, R. B., Laughlin M. H.** Blood flows within and among rat muscles as a function of time during high speed treadmill exercise. *J. Physiol.*, 344: 189-208, 1983.
- Arnall, D. A., J. C. Marker, R. K. Conlee, and W. W. Winder.** Effect of infusing epinephrine on liver and muscle glycogenolysis during exercise in rats. *Am. J. Physiol.* 250 (Endocrinol. Metab. 13): E641-E649, 1986.
- **Bailey, S.P., J. M. Davis, and E. N. Ahlborn.** Neuroendocrine and substrate responses to altered brain 5-HT activity during prolonged exercise to fatigue. *J. Appl. Physiol.*, 74(6): 3006-3012, 1993.
- Bagdy, G., A. E. Calogero, D. L. Murphy, K. Szemeredi.** Serotonin agonista cause parallel activation of the sympatho-adrenomedullary system in the

hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis in conscious rats. *Endocrinology*, 125: 2664-2669, 1989.

-**Balkan, G., G. Van Dijk, J. H. Strubbe, J. E. Bruggink, and B. Steffens.** Exercise-induced sympathetic FFA mobilization in VMH lesioned rats in normalized by fasting. *Am. J. Physiol.* 262 (*Regulatory Integrative Comp. Physiol.* 31): R981-R985, 1992.

-**Barkai, A., and C. Allweis.** Effect of electrical stimulation of the hypothalamus on plasma free fatty acid concentration in cats. *J. Lipid. Res.* 13: 725-732, 1972.

-**Beckman, A. L., and H. J. Carlisle.** Effect of intrahypothalamic infusion of acetylcholine on behavioural and physiological thermoregulation in the rat. *Nature*, 22: 561-562, 1969.

-**Bhawe, W. B.** Experiments on the fate of histamine and acetylcholine after their injection into the cerebral ventricles. *J. Physiol. Lond* 140: 169-179, 1958.

-**Borg, M. A., R. S. Sherwin, W. P. Borg, W. V. Tamborlane, and G. I. Shulman.** Local ventromedial hypothalamus glucose perfusion blocks counterregulation during systemic hypoglycemia in awake rats. *J. Clin. Invest.*, 99(2): 361-365, 1997.

-**Borg, W., R. S. Sherwin, M. Doring, M. Borg, and G. Shulman.** Local ventromedial hypothalamus glucopenia triggers counterregulatory hormone release. *Diabetes*, 44: 180-184, 1995.

-**Boulant, J. A., and J. D. Hardy.** The effect of spinal and skin temperatures on the firing rate and thermosensitivity of preoptic neurons. *J. Physiol.* 240(3): 639-660, 1974.

- Brezenoff, H. E.** Cardiovascular responses to intrahypothalamic injections of carbachol and certain cholinesterase inhibitors – *Neuropharmacology*, 11: 637-644, 1972.
- Brezenoff, H. E., and R. Giuliano.** Cardiovascular control by cholinergic mechanisms in the central nervous system. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 22: 341-381, 1982.
- **Brezenoff, H. E, and J. Rusin.** Brain acetylcholine mediates the hypertensive response to physostigmine in the rat. *Eur. J. Pharmac.*, 29: 262-266, 1974.
- Brezenoff, H. E., J. Li, and N. Tracs.** Cholinergic stimulation of the brain increases blood pressure and evokes c-fos expression in specific brain nuclei. *Am. J. Hypertension*, 7: 137A, 1994.
- Brezenoff, H. E., Y. F. Xiao, H. Vargas.** A comparison of the central and peripheral antimuscarinic effects of atropine and methylatropine injected systemically and into the cerebral ventricles. *Life Sci.* , 42: 905-911, 1988.
- Briese, E.** Normal body temperature of rats: the setpoint controversy. *Neurosc. Biobehav. Rev.*, 22(3): 427-436, 1998.
- Brito, N. A., M. N. Brito, I. C. Kettelhut, and R. H. Migliorini.** Intra-ventromedial hypothalamic injection of cholinergic agents induces rapid hyperglycemia and gluconeogenesis activation in fed, conscious rats. *Brain Res.*, 6: 339-342, 1993.
- Brown M. R., and G. A. Hedge.** Thyroid secretion in the unanesthetized, stress-free rat and its suppression by pentobarbital. *Neuroendocrinology*, 9: 158-174, 1972.

- Buccafusco, J. J.** The role of central cholinergic neurons in the regulation of blood pressure and in experimental hypertension. *Pharmacol. Rev.*, 48(2): 179-211, 1996.
- **Buccafusco, J. J. and H. E. Brezenoff.** Pharmacological study of a central cholinergic mechanism within the posterior hypothalamic nucleus which mediates a hypertensive response. *Brain Res.*, 165: 295-310, 1979.
- Caputi, A. P., F. Rossi, K. Carney, H. E. Brezenoff.** Modulatory effect of brain acetylcholine on reflex-induced bradycardia and tachycardia in conscious rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 215: 309-316, 1980.
- Carlson, K. I., J. C. Marker, D. A. Arnall, M. L. Terry, H. T. Yang, L. G. Lindsay, M. E. Bracken, and W. W. Winder.** Epinephrine is unessential for stimulation of liver glycogenolysis during exercise. *J. Appl. Physiol.* 58(2): 544-548, 1985.
- Castro, G. B. M., R. B. Fóscolo, A. M. Reis, and C. C. Coimbra.** Modulation of plasma glucose by the medial preoptic area in freely moving rats. *Physiol. Behav.*, 61: 215-220, 1997.
- Chawla, N., M. B. L. Johri, P. N. Saxena, K. C. Singhal.** Cholinergic mechanisms in central thermoregulation in pigeons. *Br. J. Pharmacol.*, 53: 317-322, 1975.
- Christensen N. J., H. Galbo.** Sympathetic nervous activity during exercise. *Annu. Rev. Physiol.*, 45: 139-153, 1983.
- Cochran, W. G., and G. M. Cox.** Experimental designees. *Wiley. New York*, 611, 1966.

- Coimbra, C. C., and R. H. Migliorini.** Cold induced free fatty acid mobilization is impaired in rats with lesions in preoptic area. *Neuroscience Lett.*, 88: 1-5, 1988.
- Coimbra, C. C., and R. H. Migliorini.** Insulin-sensitive glucoreceptor in rat preoptic area that regulate FFA mobilization. *Am. J. Physiol.*, 251 (*Endocrinol. Metab.* 14): 703-707, 1986.
- Coker, R.H., M. G. Krishna, D. B. Lacy, D. P. Bracy, and D. H. Wasserman.** Role of hepatic α - and β -adrenergic receptor stimulation on hepatic glucose production during heavy exercise. *Am. J. Physiol.*, 273: E831-E838, 1997.
- Conrad, L. C., and D. W. Pfaff.** Efferents from medial basal forebrain and hypothalamus in the rat. II. An autoradiographic study of the anterior hypothalamus. *J. Comp. Neurol.*, 169: 221-261, 1976a.
- Conrad, L. C., and D. W. Pfaff.** Efferents from medial basal forebrain and hypothalamus in the rat. I. An autoradiographic study of the medial preoptic area. *J. Comp. Neurol.*, 169: 185-219, 1976b.
- Consoli, A., N. Nurjhan, J. J. Reilly Jr., D. M. Bier, and J. E. Gerish.** Contribution of liver and skeletal muscle to alanine and lactate metabolism in humans. *Am. J. Physiol.*, 259: E667-E684, 1990.
- Criscione L., D. J. Reis, and W. T. Talman.** Cholinergic mechanisms in the nucleus tractus solitarii and cardiovascular regulation in the rat. *Eur. J. Pharmacol.*, 88: 47-55, 1983.
- Davis, J. M.** Central and peripheral factors in fatigue. *J. Sports Sci.*, 13: S49-S43, 1995.
- Davis, J.M. and Bailey, S.P.** Possible mechanisms of central nervous system fatigue during exercise. *Med. Sci. sports Exerc.* 29(1): 45-57, 1997.

- Dean, J. B., and J. A. Boulant.** In vitro localization of thermosensitive neurons in the rat diencephalons. *Am. J. Physiol.*, 257: R57-R64, 1989.
- Delp, M. D., and M. H. Laughlin.** Regulation of skeletal muscle perfusion during exercise. *Acta Physiol. Scand.*, 162: 411-419, 1998.
- Dicarlo, S. E., and V. S. Bishop.** Onset of exercise shifts operating point of arterial baroreflex to higher pressures. *Am. J. Physiol.*, 262 (*Heart Circ. Physiol.* 31): H303-H307, 1992.
- Donovan, C. M., J. B. Halter, and R. N. Bergman.** Importance of hepatic glucoceptors in sympathoadrenal response to hypoglycemia. *Diabetes*, 40: 155-158, 1991.
- Donovan, C. M., and K. D. Sumida.** Training enhanced hepatic gluconeogenesis: the importance for glucose homeostasis during exercise. *Med. Sci. Sports Exerc.*, 29(5): 628-634, 1997.
- Douen, A. G., T. Ramlal, S. Rastogi, P. J. Bilon, G. D. Cartee, M. Vranic, J. O. Holloszy, and A. Klys.** Exercise induces recruitment of "insulin-responsive glucose transporter". *J. Biol. Chem.*, 265, 13427-13430, 1990.
- Enoka R. M., and D. G. Stuart.** Neurobiology of muscle fatigue. *J. Appl. Physiol.*, 72(5): 1638-1648, 1992
- Exton, J. H.** Mechanisms involved in α -adrenergic phenomena: role of calcium ions in actions of catecholamines in liver and other tissues. *Am. J. Physiol.* 238: E3-E12, 1980.
- Fehlner, K. S., and C. J. Gordon.** Effect of ambient temperature on thermoregulation in rats following preoptic/anterior hypothalamic injection of physostigmine. *Neuropharmacology*, 24, (10): 993-997, 1985.

- Fell, R. D., S. E. Terblanche, J. L. Ivy, J. C. Young, and J. O. Holloszy.** Effect of muscle glycogen content on glucose uptake following exercise. *J. Appl. Physiol.: Respirat. Environ. Exercise Physiol.* 52(2): 434-437, 1982.
- Ferreira, M. L., U. Marubayashi, and C. C. Coimbra.** The medial preoptic área modulates the increase in plasma glucose and free fatty acid mobilization induced by acute cold exposure. *Brain Res. Bull.*, 49(1): 189-193, 1999.
- Fischer, E. H., L. M. G. Heilmeyer, and R. H. Haschke.** Phosphorylase and the control of glycogen degradation. *Current topics in Cellular Regulation*, 4: 211-251, 1971.
- Frohman, L. A., L. L. Bernardis, and M. E. Stachura.** Factors modifying plasma insulin and glucose responses to ventromedial hypothalamic stimulation. *Metabolism*, 23: 1047-1056, 1974.
- Fuller, A., R. N. Carter, and D. Mitchell.** Brain and abdominal temperatures at fatigue in rats exercising in the heat. *J. Appl. Physiol.* 84(3):877-883, 1998.
- Galbo, H.** Exercise Physiology: humoral function. *Sport Sci. Rev.*, 1: 65-93, 1992.
- Galbo, H.** Hormonal and metabolic adaptation to exercise. George Thieme-Stratton, Inc., Verlag, Stuttgart, New York, 1983.
- Galbo, H., J. J. Holst, N. J. Christensen.** Glucagon and plasma catecholamine responses to graded and prolonged exercise in man. *J. Appl. Physiol.*, 38: 70-76, 1975.
- Galbo, H., J. J. Holst, N. J. Christensen, and J. Hilsted.** Glucagon and plasma catecholamines during β -receptor blockade in exercising man. *J. Appl. Physiol.* 40: 855-863, 1976.

- Gao J., J. Ren, E. A. Gulve, and J. O. Holloszy.** Additive effect of contractions and insulin on GLUT-4 translocation into the sarcolemma. *J. Appl. Physiol.*, 77: 1597-1601, 1994.
- Gollnick, P., and C. D. Ianuzzo.** Colonic temperature response of rats during exercise. *J. Appl. Physiol.*, 24: 747-750, 1968.
- Gomes-Filho, A.** Efeito da intensidade de exercício e da adrenodemedulação sobre as respostas metabólicas de ratos não treinados. Dissertação de Mestrado apresentada ao Departamento de Fisiologia e Biofísica, ICB, UFMG, 2000.
- Goodyear, L. J., M. F. Hirshman, and E. S. Horton.** Exercise-induced translocation of skeletal muscle transporters. *Am. J. Physiol.* 261: E795-E799, 1991.
- Goodyear, L. J., P. A. King, M. F. Hirshman, C. M. Thompson, E. D. Horton, and E. S. Horton.** Contractile activity increases plasma membrane glucose transporters in the absence of insulin. *Am. J. Physiol.* 258: E667-E672, 1990.
- Goodwin, G. M., D. I. McCloskey, J. H. Mitchell.** Cardiovascular and respiratory responses to changes in central command during isometric exercise at constant muscle tension. *J. Physiol.*, 226: 173-190, 1972.
- Gordon, C. J.** Thermal biology of the laboratory rat. *Physiol. Behav.*, 47: 963-991, 1990.
- Harms, P. G., and S. R. Ojeda.** A rapid and simple procedure for chronic cannulation of rat jugular vein. *J. Appl. Physiol.*, 36: 391-392, 1974.
- Harri, M., P. Kuusela, and R. Oksanen-Rossi.** Temperature responses of rats to treadmill exercise and the effect of thermoregulatory capacity. *Acta Physiol. Scand.*, 115: 79-84, 1982.

-**Haruta, K., A. Iguchi, T. Matsubara, K. Itoh, C. Che-Lang, S. Yoshida, R. Terada, M. Kanashiro, O. Suzuki, H. Nishimura, N. Sakamoto.** Stimulation of muscarinic cholinergic neurons in the hippocampus evokes a pressor response with bradycardia. *Life Sci.*, 50: 427-433, 1992.

-**Hayashi, T., J. F. P. Wojtaszewski, and L. J. Goodyear.** Exercise regulation of glucose transport in skeletal muscle. *Am. J. Physiol.*, 273: E1039-E1051, 1997.

-**Hespeel, P., L. Vergauwen, K. Vandenberghe, and E. A. Richter.** Significance of insulin for glucose metabolism in skeletal muscle during contractions. *Diabetes*, 45, suppl. 1, S99-S104, 1996.

-**Hirshman, M. F., L. J. Goodyear, L. J. Wardzala, E. D. Horton, and E. S. Horton.** Identification of an intracellular pool of glucose transporters from basal and insulin-stimulated rat skeletal muscle. *J. Biol. Chem.* 265: 987-991, 1990.

-**Hirshman, M. F., H. Wallberg-Henriksson, L. J. Wardzala, E. D. Horton, and E. S. Horton.** Acute exercise increases the number of plasma membrane glucose transporters in rat skeletal muscle. *FEBS Lett.* 238: 235-239, 1988.

-**Hoffman, W. E.** Central cholinergic receptors in cardiovascular and antidiuretic effects in rats. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, 6: 373-380, 1979.

-**Honmura, A., M. Yanase, H. Saito, and A. Iguchi.** Effect of intrahypothalamic injection of neostigmine on the secretion of epinephrine and norepinephrine on plasma glucose level. *Endocrinology*, 130: 2997-3002, 1992.

-**Iguchi, A., K. Uemura, Y. Kunoh, H. Miura, T. Ishiguro, K. Nonogaki, T. Tamagawa, M. Gotoh, and N. Sakamoto** Hyperglycemia induced by hippocampal administration of neostigmine is suppressed by intrahypothalamic atropine. *Neuropharmacology*, 30(10): 1129-1131, 1991b.

Iguchi, A., A. Yatomi, M. Gotoh, H. Matsunaga, K. Uemura, H. Miura, T. Satake, T. Tamagawa, and N. Sakamoto. Neostigmina-induced hyperglycemia is mediated by central muscarinic receptor in fed rats. *Brain Res.*, 107: 295-300, 1990.

Iguchi A., M. Gotoh, H. Matsunaga, A. Yatomi, A. Honmura, M. Yanase, and N. Sakamoto. Mechanism of central hyperglycemic effect of cholinergic agonists in fasted rats. *Am. J. Physiol.* 251 (*Endocrinol. Metab.* 14): E431-e437, 1986.

Iguchi, A., Y. Kunoh, M. Gotoh, H. Miura, K. Uemura, T. Tamagawa, and N. Sakamoto. Relative contribution of nervous system and hormones to CNS-mediated hyperglycemia is determined by the neurochemical specificity in the brain. *Physiol. Behav.*, 50(5): 1019-1025, 1991a.

Ionescu, E., C. C. Coimbra, C. D. Walker, and B. Jeanrenaud. Paraventricular nucleus modulation of glycemia and insulinemia in freely moving rats. *Am. J. Physiol.*, 257: R1370-R1376, 1989.

Issekutz, B., Jr. Effect of β -adrenergic blockade on lactate turnover in exercising dogs. *J. Appl. Physiol.: Respirat. Environ. Exercise Physiol.* 57(6): 1754-1759, 1984.

Jackson, P. A., M. J. Pagliassotti, M. Shiota, D. W. Neal, S. Cardin, and A. D. Cherrington. Effects of vagal blockade on the counterregulatory response to insulin-induced hypoglycemia in the dog. *Am. J. Physiol.*, 273(6): E1178-E1188, 1997.

Johnson, C. D., and M. P. Gilbey. Sympathetic activity record from the rat caudal ventral artery *in vivo*. *J. Physiol.*, 476: 437-442, 1994.

- Kanosue, K., T. Hosono, Y. H. Zhang, and X. M. Chen.** Neuronal network controlling thermoregulatory effectors. *Prog. Brain Res.*, 115: 59-62, 1998.
- Katz, A., K. Sahlin, and S. Broberg.** Regulation of glucose utilization in human skeletal muscle during moderate dynamic exercise. *Am. J. Physiol.*, 260: E411-E415, 1991.
- Kirkpatrick, W. E., and P. Lomax.** The effect of atropine on the body temperature of the rat following systemic and intracerebral injection. *Life Sci.*, 6: 2273-2278, 1967.
- Kjær M .** Hepatic glucose production during exercise . *Adv. Exp. Med. Biol.*, 441: 117-127, 1998.
- Kjær M., K. Engfred, A. Fernandes, N. H. Secher, H. Galbo.** Regulation of hepatic glucose production during exercise in humans: role of sympathoadrenergic activity. *Am. J. Physiol.* 265: E275-E283, 1993.
- Kjær M., B. Kiens, M. Hargreaves, and E. A. Richter.** Influence of active muscle mass on glucose homeostasis during exercise in humans. *J. Appl. Physiol.*, 71: 552-557, 1991.
- Kjær M., P. Farrel, N. J. Christensen, and H. Galbo.** Increased epinephrine response and inaccurate glucoregulation in exercising athletes. *J. Appl. Physiol.*, 61: 1693-1700, 1986.
- Knox, G. V., C. Campbell, P. Lomax.** The effects of acetylcholine and nicotine on unit activity in the hypothalamic thermoregulatory centers of the rat. *Brain Res.*, 51: 215-223, 1973.
- Korner, M., and A. Ramu.** Central hyperglycemia effect of carbachol in rats. *Eur. J. Pharmacol.*, 35: 207-210, 1976.

- Krieger M. S., L. C. A. Conrad, and D. W. Pfaff.** Autoradiographic study of the efferent connections of ventromedial nucleus of the hypothalamus. *J.Comp. Neurol.*, 183: 785-816, 1979.
- Kristiansen, S., M. Hargreaves, and E. A. Richter.** Progressive increase in glucose transport and GLUT-4 in human sarcolemmal vesicles during moderate exercise. *Am. J.Physiol.*, 272: E385-E389, 1997.
- Krsić, M. K., and D. Djurković.** Cardiovascular responses o intracerebroventricular administration of acetylcholine in rats. *Neuropharmacology*, 17: 341-347, 1978.
- Laughlin, M. H., and R. B. Armstrong.** Muscle blood flow during locomotory exercise. *Exerc. Sport. Sci. Rev.*, 13: 95-136, 1985.
- Lee, A. D., P. A. Hansen, J. O. Holloszy.** Wortmannin inhibits insulin-stimulated but not contraction-stimulated glucose transport activity in skeletal muscle. *FEBS Lett.*, . 361: 51-54, 1995.
- Leibowitz, S. F., M. Jhanwar-Unyal, B. Dvorkin and N. H. Makman.** Distribution of α -adrenergic, β - adrenergic and dopaminergic receptors in discrete hypothalamic areas of the rat. *Brain Res.*, 233: 97-114, 1982.
- Lima, N. R. V., C. C. Coimbra, and U. Marubayashi.** Effect of intracerebroventricular injection of atropine on metabolic responses during exercise in untrained rats. *Physiol. Behav.*, 64(1): 69-74, 1998.
- Lin, M. T., H. J. Tsay, W. H. Su, F. Y. Chueh.** Changes in extracellular serotonin in rat hypothalamus affect thermoregulatory function. *Am. J. Physiol.*, 274: R1260- r1267, 1998.
- Lin, M. T., H. C. Wang, A. Chandra.** The effects on thermoregulation of intracerebroventricular injections of acetylcholine, pilocarpine, physostigmine,

atropine, and hemicholinium in the rats. *Neuropharmacology*, 19: 561-565, 1980.

-**Lipton, J. M., and W. G. Clark.** Neurotransmitters in temperature control. *Annu. Rev. Physiol.*, 48: 613-623, 1986.

-**Lomax, P, and D. J. Jenden.** Hypothermia following systematic and intracerebral injection of oxotremorine in the rat. *Int. J. Neuropharmacol.* 5: 353-359, 1966.

-**Luiten, P. G. M., G. J. Horstter, and A. B. Steffens.** The hypothalamus, intrinsic connections and outflow pathways to the endocrine system in relation to the control of feeding and metabolism. *Prog. Neurobiol.*, 28: 1-54, 1987.

-**Lund, S., G. D. Holman, O. Schmitz, and O. Pedersen.** Contraction simulates translocation of glucose transporter GLUT4 in skeletal muscle through a mechanism distinct from that of insulin. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 92: 5817-5821, 1995.

-**Marker, J. C., D. A. Arnall, R. K. Conlee, and W. W. Winder.** Effect of adrenodemedullation on metabolic responses to high-intensity exercise. *Am. J. Physiol.*, 251: R552-R559, 1986.

-**Marker, J. C., I. B. Hirsch, L. J. Smith, C. A. Parvin, J. O. Holloszy, and P. E. Cryer.** Catecholamines in prevention of hypoglycemia during exercise in humans. *Am. J. Physiol.*, 260: E705-E712, 1991.

-**Matthew, C. B., R. P. Francescone, and R. W. Hubbard.** Physostigmine: dose-response effects on endurance and thermoregulation during exercise. *Life Sci.* 50: 39-44, 1992.

- Matsushita, I., and T. Shimazu.** Chemical coding of the hypothalamic neurons in metabolic control. II Norepinephrine-sensitive neurons and glycogen breakdown in liver. *Brain Res.*, 183: 79-87, 1980.
- Mazzeo, R. S., P. R. Bender, G. A. Brooks, G. E. Butterfield, B. M. Groves, J. R. Sutton, E. E. Wolfel, and J. T. Reeves.** Arterial catecholamine responses during exercise with acute and chronic high-altitude exposure. *Am. J. Physiol.*, 261: E419-E424, 1991.
- McArdle, W. D., F. I. Katch, V. L. Katch.** Exercise Physiology, Philadelphia. edit. Lea & Febiger, 1996.
- Meeter, E..** The mechanism of intraventricular carbachol on the body temperature of the rat. *Archs. Int. Pharmacodyn. Ther.*, 194: 310-321, 1971.
- Metzger, J. M., and R. L. Moss.** Greater hydrogen ion-induced depression of tension and velocity in skinned single fibres of rat fast than slow muscles. *J. Physiol.*, 393: 727-742, 1987.
- Migliorini, R. H., M. A. R. Garofalo, J. E. S. Roselino, and I. C. Kettelhut.** Rapid activation of gluconeogenesis after intracerebroventricular carbachol. *Am. J. Physiol.* 257 (*Endocrinol. Metab.* 20): E486-E490, 1989.
- Mitchell, J. H.** Neural control of circulation during exercise. *Med. Sci. Sports Exercise*, 22: 141-154, 1990.
- Morishima Y., and Shibano, T.** Evidence that 5-HT_{2A} receptors are not involved in 5-HT mediated thermoregulation in mice. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 52(4): 755-758, 1995.
- Myers, R. D., D. B. Beleslin, A. H. Rezvani.** Hypothermic: role of α 1- and α 2-adrenergic receptors in the hypothalamus of the cat. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 26: 373-379, 1987.

- Narita, K., M. Nishihara, M. Takahashi.** Concomitant regulation of running activity and metabolic change by ventromedial nucleus of the hypothalamus. *Brain Res.*, 642: 290-296, 1994.
- Narita, K., T. Yokawa, M. Nishihara, and M. Takahashi.** Interaction between excitatory and inhibitory aminoacids in the ventromedial nucleus of the hypothalamus in inducing hyperrunning. *Brain Res.*, 603: 243-247, 1993.
- Nielsen B., J. R. S. Hals, N. J. Strange, N. J. Christensen, J. Warberg, B. Saltin.** Human circulatory and thermoregulatory adaptations with heat acclimation and exercise in a hot, dry environment. *J. Physiol. (London)*, 460: 467-485, 1993.
- Nielsen, B. G. Savard, E. A. Richter, M. Hargreaves, and B. Saltin.** Muscle blood flow and muscle metabolism during exercise and heat stress. *J. Appl. Physiol.*, 69: 1040-1046, 1990.
- Niijima, A.** Blood glucose levels modulate efferente acitivity in the vagal supply to the rat liver. *J. Physiol.*, 364: 105-112, 1985.
- Niijima, A.** Glucose-sensitive afferent nerve fibres in the hepatic branch of the vagus nerve in the guinea pig. *J. Physiol.*, 332: 315-323, 1982.
- O'Hagan, K. P., S. M. Casey, R. S. Clifford.** Muscle chemoreflex increases renal sympathetic nerve activity during exercise . *J. Appl. Physiol.*, 82: 1818-1825, 1997.
- O'Leary, D. S.** Autonomic mechanisms of muscle metaboreflex control of heart rate. *J. Appl. Physiol.*, 74(4): 1748-1758, 1993.
- O'Leary, D. S., J. M. Johnson, and W. Fred Taylor.** Mode of neural control mediating rat tail vasodilation during heating. *J. Appl. Physiol.*, 59(5): 1533-1538, 1985.

- Paxinos, G. S., and C. Watson.** The rat brain in stereotaxic coordinates. New York: Academic, 1982.
- Philippu, A.** Involvement of cholinergic system of the brain in the central regulation of cardiovascular function. *A. Auton. Pharmacol.*, 1: 321-330, 1981.
- Ploug, T., H. Galbo, and E. A. Richter.** Increased muscle glucose uptake during contractions: no need for insulin. *Am. J. Physiol.*, 247: E726-E731, 1984.
- Ploug, T., H. Galbo, J. Vinten, M. Jorgensen, and E. A. Richter.** Kinetics of glucose transport in rat muscle: effects of insulin and contractions. *Am. J. Physiol.*, 253: E12-E20, 1987.
- Rand, R. P., A. C. Burton, and T. Ing.** The tail of the rat in temperature regulation and acclimatization. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 43: 257-267, 1965.
- Ricardo, J. A.** Hypothalamic pathways involved in metabolic regulatory function as identified by track-tracing methods. In: *Advances in metabolic disorders: CNS regulation of carbohydrate metabolism.* Edited by A. J. Szabo, N.Y. Academic Press, vol. 10, 1-13, 1983.
- Richter, E. A., S. Kristiansen, J. Wojtaszewski, J. R. Dugaard, S. Asp, P. Hespel and B. Kiens.** Training effects on muscle glucose transport during exercise. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 441: 107-116, 1998.
- Richter, E. A., B. Sonne, N. J. Christensen, and H. Galbo.** Role of epinephrine for muscular glycogenolysis and pancreatic hormonal secretion in running rats. *Am. J. Physiol.*, 240 (*Endocrinol. Metab.* 3): E526-E532, 1981.
- Richter, E. A., I. P. Garetto, M. M. Goodman, N. B. Ruderman.** Muscle glucose metabolism following exercise in the rat: increased sensitivity to insulin. *J. Clin. Invest.*, 69: 785-793, 1982b.

-**Richter, E. A., N. B. Ruderman, H. Gavras, E. R. Belur, H. Galbo.** Muscle glycogenolysis during exercise: dual control by epinephrine and contractions. *Am. J. Physiol.*, 242 (*Endocrinol. Metab.* 5): E25-E32, 1982a.

-**Richter, E. A., T. Ploug, and H. Galbo.** Increased muscle glucose uptake after exercise. No need for insulin during exercise. *Diabetes*, 34 (10): 1041-4048, 1985.

-**Rodrigues, A. G.** Efeito da estimulação colinérgica central nas alterações metabólicas de ratos não treinados durante o repouso ou em exercício físico. Dissertação de Mestrado apresentada ao Depto de Fisiologia e Biofísica, ICB-UFMG, 2000.

-**Roth, D. A.** The sarcolemmal lactate transporter: transmembrane determinants of lactate flux. *Med. Sci. Sports Exercise*, 23: 925-934, 1991.

-**Rowell, L. B., and D. S. O'Leary.** Reflex control of circulation during exercise: chemoreflexes and mechanoreflexes. *J. Appl. Physiol.* 69 (2): 407-418, 1990.

-**Santos, G. L., J. V. P. Leite, C. C. Coimbra.** Metabolic adjustment induced by exposure to elevated ambient temperature is impaired in rats bearing lesions in the preoptic área. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 23: 831-834, 1990.

-**Satinoff, E., and S. Shan.** Loss of behavior thermoregulation after lateral hypothalamic lesions in rats. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 47: 302-312, 1971.

-**Scheurink, A. J. W., A. B. Steffens, and L. Benthem.** Central and peripheral adrenoceptors affect glucose, free fatty acids, and insulin in exercising rats. *Am. J. Physiol.* 255 (*Regulatory Integrative Comp. Physiol.* 24): R547-R556, 1988.

-**Scheurink, A. J. W., A. B. Steffens, and R. P. A. Gaykema.** Hypothalamic adrenoceptors mediate sympathoadrenal activity in exercising rats. *Am. J. Physiol.* 259 (*Regulatory Integrative Comp. Physiol.* 28): R470-R477, 1990.

-**Scheurink, A. J. W., A. B. Steffens, H. Bouritius, G. H. Dreteler, R. Bruntink, R. Remie, and J. Zaagsma.** Adrenal and sympathetic catecholamines in exercising rats. *Am. J. Physiol.* 256 (*Regulatory Integrative Comp. Physiol.* 25): R155-R160, 1989.

-**Scheurink, A. J. W., and A. B. Steffens.** Central and peripheral control of sympathoadrenal activity and energy metabolism in rats. *Physiol. Behav.*, 48 (6): 909-920, 1990.

-**Shellock, F. G., and S. A. Rubin.** Temperature regulation during treadmill exercise in the rat. *J. Appl. Physiol.* 57 (6): 1872-1877, 1984.

-**Shimazu, T.** Reciprocal innervation of the liver: its significance in metabolic control. In: *Advances in metabolic disorders*. Edited by Szabo, A. J.. Academic Press, N. Y., vol 10, 355, 1983.

-**Shimazu, T.** Central nervous system regulation of liver and adipose tissue metabolism. *Diabetologia*, 20 (suppl): 343-356, 1981.

-**Shimazu, T.** Regulation of glycogen metabolism in liver by the autonomic nervous system. V. Activation of glycogen synthetase by vagal stimulation. *Biochem. Biophys. Acta*, 252: 28-33, 1971.

-**Shimazu, T., and A. Amakawa.** Regulation of glycogen metabolism in liver by the autonomic nervous system. *Biochem. Biophys. Acta*, 385: 242-256, 1975.

-**Shimazu, T., H. Matsushita, and K. Ishikawa.** Hypothalamic control of liver glycogen metabolism in adult and aged rats. *Brain Res.*, 144: 343-352, 1978.

-**Sonne, B., and H. Galbo.** Simultaneous determinations of metabolic and hormonal responses, heart rate, temperature and oxygen uptake in running rats. *Acta Physiol. Scand.*, 109: 201-209, 1980.

- Sonne, B., H. Galbo, and N. J. Christensen.** Sympathoadrenal and metabolic responses to graded exercise in rats. *Int. J. Sports Med.*, 4(2): 212-215, 1981.
- Sonne, B., K. J. Mikines, E. A. Richter, N. J. Christensen, and H. Galbo.** Role of liver nerves and adrenal medulla in glucose turnover of running rats. *J. Appl. Physiol.*, 59 (5): 1640-1646, 1985.
- Spriet, L. L., J. M. Ren, and E. Hultman.** Epinephrine infusion enhances muscle glycogenolysis during prolonged electrical stimulation. *J. Appl. Physiol.*, 64: 1439-1444, 1988.
- Spriet, L. L., M. I. Lindinger, R. S. McKelvie, G.J. Heigenhauser, N. L. Jones.** Muscle glycogenolysis and H⁺ concentration during maximal intermittent cycling. *J. Appl. Physiol.*, 66(1): 8-13, 1989.
- Stainsby W. N., C. Sumners, and G. M. Andrew.** Plasma catecholamines and their effect on blood lactate and muscle lactate output. *J. Appl. Physiol.*, 57 (2): 321-325, 1984.
- Stanley, W. C., E. W. Gertz, J. A. Wisneski, R. A. Neese, D. L. Morris, and G. A. Brooks.** Lactate extraction during net lactate release in legs of humans during exercise. *J. Appl. Physiol.* 60: 1116-1120, 1986.
- Steffens, A. B., A. J. W. Scheurink, P. G. M. Luiten, and B. Bohus.** Hypothalamic food intake regulating areas involved in the homeostasis of blood glucose and plasma FFA levels. *Physiol. Behav.*, 44(4/5): 581-589, 1988.
- Sternlicht E., R. J. Barnard, G. K. Grimditch.** Exercise and insulin stimulate skeletal muscle glucose transport through different mechanisms. *Am. J. Physiol.*, 256: E227-E230, 1989.

- Tago, H., P. L. McGeer, G. Bruce, L. B. Hersh.** Distribution of choline acetyltransferase-containing neurons of the hypothalamus. *Brain Res.*, 415: 49-62, 1987.
- Thompson, G. E., and J. A. F. Stevenson.** The temperature response of the awake rat to treadmill exercise, and the effect of anterior hypothalamic lesions. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 43: 279-287, 1965.
- Thornhill, J. A., I. Halvorson.** Electrical stimulation of the posterior and ventromedial hypothalamic nuclei causes specific activation of shivering and nonshivering thermogenesis. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 72 (1): 89-96, 1994.
- Thornhill, J. A., A. Jugnauth, and I. Halvorson.** Brown adipose tissue thermogenesis evoked by medial preoptic stimulation is mediated via the ventromedial hypothalamic nucleus. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 72: 1042-1048, 1994.
- Unal, C. B., Y. Demiral, T. H. Ulus.** The effects of choline on body temperature in conscious rats. *Eur. J. Pharmacol.*, 363: 121-126, 1998.
- Valladão, A. S., W. A. Saad, L. A. Camargo, A. Renzi, L. A. De Luca Jr., J. V. Menami.** Interaction between cholinergic and adrenergic pathways of the hypothalamic ventromedial nucleus on cardiovascular regulation. *J. Auton. Nerv. Syst.*, 30(3): 239-246, 1990.
- Van Djik, G., B. Balkan, J. Lindfeldt, G. Bouws, A. J. W. Scheurink, B. Ahren, and A. B. Steffens.** Contribution of liver nerves, glucagons, and adrenaline to the glycaemic response to exercise in rats. *Acta Physiol. Scand.*, 150: 305-313, 1994a.
- Van Djik, G., J. Vissing, A. B. Steffens, and H. Galbo.** Effect of anaesthetizing the region of the paraventricular hypothalamic nuclei on energy

metabolism during exercise in the rat. *Acta Physiol. Scand.*, 151: 165-172, 1994b.

-**Victor, R. G., D. R. Seals, and A. L. Mark.** Differential control of heart rate and sympathetic nerve activity during dynamic exercise. *J. Clin. Invest.*, 79: 508-516, 1987.

-**Vissing, J., B. Sonne, and H. Galbo.** Role of metabolic feedback regulation in glucose production of running rats. *Am. J. Physiol.*, 255 (*Regulatory Integrative Comp. Physiol.* 24): R400-R406, 1988b.

-**Vissing, J., B. Sonne, and H. Galbo.** Regulation of hepatic glucose production in running rats studied by glucose infusion. *J. Appl. Physiol.*, 65: 252-2557, 1988a.

-**Vissing, J., G. A. Iwamoto, K. J. Rybicki, H. Galbo, and J. Mitchell.** Mobilization of glucoregulatory hormones and glucose by hypothalamic locomotor centers. *Am. J. Physiol.* 257 (*Endocrinol. Metab.* 20): E722-E728, 1989a.

-**Vissing, J., J. L. Wallace, A. J. W. Scheurink, H. Galbo, and A. B. Steffens.** Ventromedial hypothalamus regulation of hormonal and metabolic responses to exercise. *Am. J. Physiol.*, 256: R1019-R1026, 1989b.

-**Vranic, M., R. Kawamori, S. Pek, N. Kovacevic, G. Wrenshall.** The essentiality of insulin and the role of glucagons in regulating glucose utilization and production during strenuous exercise in dogs. *J. Clin. Invest.*, 57: 245-256, 1976.

-**Wahren, J., P. Felig, G. Ahlborg, and L. Jorfeldt.** Glucose metabolism during leg exercise in mam. *J. Clin. Invest.* 50: 2715-2725, 1971.

-Wahren, J., L. Hagenfeld, and P. Felig. Splanchnic and leg exchange of glucose, aminoacids, and free fatty acid during exercise in diabetes mellitus. *J. Clin. Invest.*, 55: 1303-1314, 1975.

-Wallber-Henriksson, S. H. Constable, D. A. Young, and J. O. Holloszy. Glucose transport into rat skeletal muscle interaction between exercise and insulin. *J. Appl. Physiol.*, 65(2): 903-913, 1988.

-Wasserman, D. H., D. B. Lacy, D. R. Green, P. E. Williams, A. D., Cherrington. Dynamics of hepatic lactate and glucose balances during prolonged exercise and recovery in the dog. *J. Appl. Physiol.*, 63(6): 2411-2417, 1987.

-Wasserman, D. H., J. A. Spalding, D. B. Lacy, C. C. Colburn, R. E. Goldstein, A. D., Cherrington. Glucagon is a primary controller of hepatic glycogenolysis and gluconeogenesis during muscular work. *Am. J. Physiol.* 257: E108-E117, 1989b.

-Wasserman, D. H., P. E. Williams, D. B. Lacy, R. E. Goldstein, A. D., Cherrington. Exercise-induced fall in insulin and hepatic carbohydrate metabolism during muscular work. *Am. J. Physiol.*, 256: E500-E509, 1989a.

-Wasserman, D. H., P. E. Williams, D. B. Lacy, D. Bracy, A. D., Cherrington. Hepatic nerves are not essential to the increase in hepatic glucose production during muscular work. *Am. J. Physiol.*, 259: E195-E203, 1990.

-Wilson, N. C., C. V. Gisolf, J. Farber, and D. K. Hinrichs. Colonic and tail-skin temperature responses of the rat at selected running speeds. *J. Appl. Physiol.*, 44: 571-575, 1978.

- Winder, W. W., J. Boullier, and R. D. Fell.** Liver glycogenolysis during exercise without a significant increase in cAMP. *Am. J. Physiol.*, 237: R147-R152, 1979.
- Winder, W. W.** Control of hepatic glucose production during exercise. *Med. Sci. Sports Exercise*, 17: 2-5, 1985.
- Yokawa, T., D. Mitsushima, C. Itoh, H. Konishi, K. Shiota, and M. Takahashi.** The ventromedial nucleus of the hypothalamus outputs long-lasting running in rats. *Physiol. Behav.*, 46: 713-717, 1989.
- Yokawa, T., K. Shiota, and M. Takahashi.** Hyper-running activity originating from the hypothalamus is blocked by GABA. *Physiol. Behav.*, 47: 1261-1264, 1990.
- Young, A. A., and N. J. Dawson.** Evidence for on-off control of heat dissipation from the tail of the rat. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 60: 392-398, 1982.