

William Coutinho Damasceno

**EFEITOS DA ESTIMULAÇÃO COLINÉRGICA CENTRAL
SOBRE A TEMPERATURA TALÂMICA DURANTE O
EXERCÍCIO FÍSICO**

Belo Horizonte
2013

William Coutinho Damasceno

**EFEITOS DA ESTIMULAÇÃO COLINÉRGICA CENTRAL
SOBRE A TEMPERATURA TALÂMICA DURANTE O
EXERCÍCIO FÍSICO**

Dissertação apresentada ao curso de Pós-graduação em Ciências do Esporte da Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Ciências do Esporte.

Orientador: Dr. Nilo Resende Viana Lima

Belo Horizonte
2013

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Zaqueu e Maria, pelo carinho, apoio e incentivo na realização dos meus projetos. A meu irmão Wesley, pela ótima convivência e amizade. À minha amiga Rosalina Torres, que é parte da família, por todo o carinho e zelo. Agradeço por sempre poder contar com vocês.

Ao Dr. Nilo Resende Viana Lima, pela importante contribuição na minha formação acadêmica. Agradeço por me ensinar o cuidado com a experimentação animal e pela paciência com minhas dificuldades. Obrigado pelo exemplo de profissionalismo.

À Prof. Dra. Danusa Dias Soares pela atenção com seus alunos e dedicação ao nosso laboratório.

Ao Prof. Cândido Celso Coimbra pelo acesso ao Laboratório de Endocrinologia e Metabolismo do ICB.

Ao Prof. Dr. Luiz Oswaldo Carneiro Rodrigues pelo entusiasmo contagiante ao falar sobre ciência.

Ao Dr. Samuel Pena Wanner por me ensinar os procedimentos para a verificação do posicionamento das cânulas guias (fazer os cortes, corar o tecido, visualizar as estruturas); pelo auxílio na análise estatística; por todas as correções e sugestões para este trabalho; pelo exemplo de dedicação.

Ao Dr. Washington Pires por me ensinar os procedimentos para injeção ICV (cirurgia, teste de confirmação, manuseio dos equipamentos), os procedimentos para a medida da pressão arterial no rato (cirurgia, manuseio de equipamentos, utilização do software de aquisição dos dados), pelas correções no texto. Obrigado pela boa vontade e pela convivência agradável.

À Luciana Madeira pela colaboração na padronização dos procedimentos de medida da temperatura cerebral (funcionamento do equipamento de aquisição e armazenamento dos dados, do sensor de temperatura, construção da planilha para transformação dos dados de resistência, técnica de inserção sensor de temperatura).

Ao Wolmar Pimenta, técnico em eletrônica do Laboratório de Visão e Robótica (VERLAB) da UFMG, pela soldagem dos sensores de temperatura cerebral.

À Maria Aparecida Vasconcelos Faria, Gestora de Resíduos de Serviços de Saúde na EEEFTO/UFMG, pelo auxílio e conscientização da utilização e descarte adequado das substâncias utilizadas no laboratório e também pelas ótimas conversas.

À Maira Elisa Cassimiro Martins Moraes, técnica do LAFISE, pela organização e disposição em melhorar nosso ambiente de trabalho.

À Milene Rodrigues Malheiros Lima pela paciência e atenção em transferir seu conhecimento técnico laboratorial, pelas ótimas discussões, sugestões e também por todo apoio nos momentos de dificuldades.

À Renata Lane de Freitas Passos pela amizade e auxílio em assuntos pessoais e relacionados ao laboratório.

À Ana Cançado Kunstetter pela ajuda na formatação desta dissertação; sugestões; pela contribuição no procedimento de medida da temperatura cerebral; pelo companheirismo e amizade.

Aos companheiros do laboratório e a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desta dissertação.

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi medir a temperatura talâmica durante o exercício físico e verificar se a estimulação colinérgica central modifica de maneira diferente as temperaturas talâmica e abdominal. Foram utilizados ratos Wistar pesando entre 250-350 g. No experimento 1, os animais foram submetidos ao implante crônico de cânula guia no tálamo para a medida da temperatura cerebral em duas velocidades de corrida (21 e 24 m/min, que corresponde a 70 e 80% VO_{2max} , respectivamente) na esteira até a interrupção voluntária do esforço (IVE). No experimento 2, os ratos foram submetidos ao implante crônico de cânulas guias no ventrículo cerebral lateral (ICV) e no tálamo e também ao implante de um sensor de temperatura na cavidade abdominal. Em ambos os experimentos, imediatamente antes do início exercício, um sensor de temperatura foi posicionado no tálamo. No experimento 1, o exercício físico induziu um aumento na temperatura talâmica nas duas intensidades testadas ($37,97 \pm 0,05^{\circ}C$, min 4 vs $37,46 \pm 0,04^{\circ}C$, min 0, 21 m/min; $38,04 \pm 0,04^{\circ}C$, min 4 vs $37,55 \pm 0,04^{\circ}C$, min 0, 24 m/min; $p < 0,05$). No segundo experimento, os animais foram submetidos a injeção ICV de fisostigmina (10^{-2} M) ou veículo (álcool 10%; VEIC). A injeção de fisostigmina atenuou a elevação de ambas as temperaturas, talâmica ($37,78 \pm 0,14^{\circ}C$ FIS vs $39,02 \pm 0,10^{\circ}C$ VEIC, min 15; $p < 0,05$) e abdominal ($37,50 \pm 0,12^{\circ}C$ FIS vs $38,69 \pm 0,11^{\circ}C$ VEIC, min 20; $p < 0,05$), em aproximadamente 43%. Nossos achados mostram que o aumento da temperatura talâmica induzido pelo exercício físico não foi diferente entre as intensidades testadas e que o aumento da dissipação cutânea de calor induzido pela estimulação colinérgica central atenua proporcionalmente a elevação da temperatura talâmica e abdominal durante o exercício físico.

Palavras-chave: Exercício. Fisostigmina. Termorregulação.

ABSTRACT

The present study was aimed at investigating physical exercise-induced alterations in the thalamic temperature and whether the central cholinergic stimulation differently modifies the thalamic and abdominal temperatures. Wistar rats (250-350 g) were used in the experiments. In the experiment 1, a guide cannula was implanted in the thalamus to measure the temperature in two treadmill running speeds (21 and 24 m/min, corresponding to 70 e 80% VO_{2max} , respectively) until voluntary effort interruption (VEI). In the experiment 2, two guides cannulae were implanted into the lateral ventricle and thalamus. Immediately after, a temperature sensor was implanted in the abdominal cavity to measure the core temperature during treadmill running at 21 m/min until VEI. In both experiments, before the start of exercise, a temperature sensor was positioned in the thalamus. In the first experiment, the exercise induced an increase in the thalamus temperature in the two running speeds evaluated ($37.97 \pm 0.05^{\circ}C$, min 4 vs $37.46 \pm 0.04^{\circ}C$, min 0, 21 m/min; $38.04 \pm 0.04^{\circ}C$, min 4 vs $37.55 \pm 0.04^{\circ}C$, min 0, 24 m/min; $p < 0.05$). In the second experiment, the rats were subjected to 2 μ L of physostigmine (10^{-2} M) or vehicle (alcohol 10%; VEH) injection into the cerebral ventricle. The physostigmine injection attenuated the exercise-induced increase in the thalamic ($37.78 \pm 0.14^{\circ}C$ PHY vs $39.02 \pm 0.10^{\circ}C$ VEH, min 15, $p < 0.05$) and abdominal ($37.50 \pm 0.12^{\circ}C$ PHY vs $38.69 \pm 0.11^{\circ}C$ VEH, min 20; $p < 0.05$) temperatures by approximately 43%. We conclude that the thalamic temperature increase induced by exercise was not different between the intensities tested and that cutaneous heat dissipation induced by central cholinergic stimulation during exercise attenuates proportionally the increase in the thalamic and abdominal temperatures.

Keywords: Exercise. Physostigmine. Thermoregulation.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 - Esquema das conexões talâmicas.	18
FIGURA 2 - Representação esquemática das conexões dos núcleos de retransmissão talâmica	19
FIGURA 3 - Cálculo amostral.....	25
FIGURA 4 - Delineamento experimental referente aos experimentos 1 e 2.....	26
FIGURA 5 - Linha do tempo referente ao experimento 1	27
FIGURA 6 - Linha do tempo referente ao experimento 2	28
FIGURA 7 - Fotomicrografia de secções transversas cerebrais.....	40
FIGURA 8 - Tempo total de exercício de ratos que correram a 21 ou 24 m/min.....	42
FIGURA 9 - Temperatura talâmica durante o repouso na caixa e durante o exercício na esteira a 21 ou 24 m/min	44
FIGURA 10 - Efeito da injeção de veículo ou fisostigmina no ventrículo lateral sobre o tempo total de exercício em ratos	45
FIGURA 11 - Efeito da injeção de veículo ou fisostigmina no ventrículo lateral sobre a temperatura talâmica e abdominal de ratos durante o exercício a 21 m/min	47
FIGURA 12 - Diferença absoluta e relativa entre as temperaturas do tálamo e abdômen após a injeção ICV de veículo ou fisostigmina em ratos durante o exercício a 21 m/min.....	49
FIGURA 13 - Área sob a curva da variação das temperaturas talâmica e abdominal de ratos durante o exercício à 21 m/min	50
FIGURA 14 - Efeitos da injeção de ICV veículo ou fisostigmina sobre a variação da pressão arterial média (PAM) de ratos durante o repouso na caixa.....	51

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Valores da massa corporal pré-exercício e temperatura no interior da esteira, nos experimentos 1 e 2	41
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS

μL : microlitro

μm : micrómetro

$^{\circ}\text{C}$: grau celsius

ABD: abdominal

ANOVA: análise de variação

AP: antero posterior

ASC: área sob a curva

CbTC: circuito cerebelo-talâmico-cortical

CETEA: Comitê de Ética em Experimentação Animal

cm: centímetro

CV: coeficiente de variação

DV: dorso ventral

EEFFTO: Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional

EPM: erro padrão médio

FIS: fisostigmina

g: grama

GTC: circuito gânglio-talâmico-cortical

ICV: intracerebroventricular

IVE: interrupção voluntária do esforço

kg: quilo

KΩ: quilo-ohm

m: metro

M: molar

mA: miliampere

mg: miligrama

min: minuto

ML: médio lateral

ml: mililitro

mm: milímetro

mmHg: milímetro de mercúrio

mV: milivolts

n: número amostral

NaCl: cloreto de sódio

OS: núcleo de retransmissão talâmica de ordem superior

PA: pressão arterial

PaCO₂: pressão parcial de dióxido de carbono no sangue arterial

PAM: pressão arterial média

PE: polietileno

PO: núcleo de retransmissão talâmica de primeira ordem

RCS: resfriamento cerebral seletivo

TAL: talâmica

TE: temperatura no interior da esteira

TTE: tempo total de exercício

UFMG: Universidade Federal de Minas Gerais

UI: unidades internacionais

VEIC: veículo

VL: núcleo talâmico ventro-lateral

VM: núcleo talâmico ventro-medial

VO_{2max}: capacidade aeróbica máxima

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
1.1	Temperatura cerebral e exercício físico	13
1.2	Termorregulação, sistema colinérgico e exercício.....	19
1.3	Objetivo	23
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	24
2.1	Cuidados éticos	24
2.2	Animais.....	24
2.3	Cálculo amostral.....	25
2.4	Delineamento experimental	26
2.5	Procedimentos cirúrgicos	29
<i>2.5.1</i>	<i>Implante do sensor de temperatura na cavidade abdominal e das cânulas talâmica e ventricular</i>	<i>29</i>
<i>2.5.2</i>	<i>Implante do cateter na artéria aorta.....</i>	<i>30</i>
2.6	Familiarização ao exercício na esteira rolante.....	31
2.7	Injeção no ventrículo cerebral lateral	31
2.8	Protocolo experimental.....	32
2.9	Variáveis medidas	32
<i>2.9.1</i>	<i>Temperatura abdominal.....</i>	<i>32</i>
<i>2.9.2</i>	<i>Temperatura cerebral</i>	<i>33</i>
<i>2.9.3</i>	<i>Tempo total de exercício</i>	<i>34</i>
2.10	Variáveis de controle.....	35
<i>2.10.1</i>	<i>Massa corporal.....</i>	<i>35</i>
<i>2.10.2</i>	<i>Temperatura ambiente</i>	<i>35</i>

2.10.3	<i>Temperatura no interior da esteira</i>	35
2.11	Teste da pressão arterial	35
2.12	Eutanásia	36
2.13	Verificação do posicionamento das cânulas	36
2.14	Análise estatística	37
3	RESULTADOS	39
3.1	Posicionamento das cânulas	39
3.2	Parâmetros de controle	41
3.3	Tempo total de exercício – Experimento 1	41
3.4	Temperatura talâmica durante o repouso e o exercício – Experimento 1 43	
3.5	Tempo total de exercício – Experimento 2	45
3.6	Temperatura talâmica e abdominal dos animais injetados com fisostigmina no ventrículo lateral	46
3.7	Área sob a curva da variação da temperatura talâmica e abdominal	50
3.8	Confirmação da efetividade das injeções ICV (Teste da pressão arterial) 51	
4	DISCUSSÃO	52
4.1	Temperatura talâmica e desempenho físico	52
4.2	Estimulação colinérgica central, temperatura talâmica e desempenho físico 57	
5	CONCLUSÃO	61
	REFERÊNCIAS	62

1 INTRODUÇÃO

1.1 Temperatura cerebral e exercício físico

Os mamíferos são animais homeotérmicos, cuja temperatura interna é mantida em aproximadamente 37° C, independente das variações na temperatura ambiente. A endotermia foi uma novidade evolutiva que permitiu que esse grupo de animais desenvolvesse agilidade para fuga e predação, maior aprendizado social e desenvolvimento do cérebro quando comparados aos demais vertebrados. Por outro lado, a manutenção da temperatura interna estável requer alta taxa metabólica e, portanto, os mamíferos necessitam buscar constantemente seus alimentos. Visto que as crias não conseguem obter alimento, se tornam dependentes dos pais por longos períodos. O aumento do tempo de convívio entre crias e pais favoreceu a seleção de cérebros cada vez maiores e mais complexos (GORE, 2003). Como o cérebro grande consome muita energia, além da necessidade de uma ingestão calórica mais contínua, desenvolveram-se nos mamíferos mecanismos mais complexos para dissipar o calor proveniente de seu metabolismo (DALGALARRONDO, 2011).

Durante as atividades físicas diárias (caçadas ou fuga de predadores) a produção de calor aumenta e altera tanto a temperatura do cérebro quanto a temperatura sistêmica. A elevação da temperatura interna estimula os termorreceptores e desencadeia a ativação de mecanismos de dissipação de calor. Estes ajustes atenuam a elevação da temperatura interna e protege os órgãos dos danos induzidos pela hipertermia. Existem evidências de que o cérebro é mais sensível às oscilações da temperatura interna quando comparado a outros órgãos. De fato, a elevação da temperatura cerebral representa um risco para a integridade do tecido neural e pode aumentar a permeabilidade da barreira hemato-encefálica, causar edema celular e outras anormalidades na estrutura da célula (KIYATKIN, SHARMA, 2011).

Em função do metabolismo cerebral, a temperatura do cérebro é mantida acima da temperatura do sangue arterial, que por sua vez representa a temperatura média

dos tecidos corporais. Entretanto, em algumas circunstâncias a temperatura cerebral pode ser mantida abaixo da temperatura arterial. Tal inversão é denominada resfriamento cerebral seletivo (RCS). O RCS permite que a temperatura cerebral seja mantida abaixo da temperatura do resto do corpo durante várias condições, incluindo a exposição ao calor, exercício de resistência, vigília relaxada e durante o sono, sendo inibido durante o frio e em situações de estresse emocional. Além de proteger o cérebro do dano térmico, o RCS pode prolongar o desempenho físico de animais e também contribuir para a conservação de água em mamíferos desidratados (CAPUTA, 2004).

Em ratos, a temperatura cerebral aumenta mais rapidamente e em maior magnitude quando comparada à temperatura sistêmica diante de estímulos que representam novidade (KIYATKIN, BROWN, WISE, 2002). Em humanos foi demonstrado que a temperatura do sangue venoso que drena o cérebro é maior que a temperatura do sangue arterial que perfunde este tecido durante o repouso e o exercício em ambiente termoneutro e quente (NYBO, SECHER, NIELSEN, 2002). Estes dados sugerem que a temperatura cerebral é determinada em maior parte pela ativação neural intrínseca quando comparada a contribuição da temperatura do sangue arterial que perfunde o cérebro. Portanto, a temperatura cerebral é índice da atividade metabólica local (KIYATKIN, BROWN, WISE, 2002).

A temperatura no cérebro pode variar entre as diferentes estruturas em função de sua localização. Regiões mais dorsais, como o córtex cerebral, mantêm a temperatura basal em valores menores que regiões cerebrais mais ventrais, como o tálamo. Isto é atribuído, pelo menos em parte, a maior distância das estruturas mais ventrais da superfície irradiante da cabeça (KIYATKIN, BROWN, WISE, 2002). Além da diferença de temperatura basal entre as estruturas cerebrais, atribuída a sua localização, a temperatura cerebral pode se alterar de maneira diferente entre as diferentes regiões em função das áreas ativadas por um determinado estímulo (KIYATKIN, BROWN, WISE, 2002). Durante o exercício, por exemplo, é observado que a ativação de regiões motoras, como o córtex motor primário, aumenta em função da intensidade do exercício. Em contrapartida, não são observadas alterações em outras regiões corticais que não estão diretamente relacionadas ao

controle motor, como o córtex sensorial primário e o córtex pré-frontal ([BRUMMER et al, 2011](#)).

O sangue arterial que perfunde o cérebro contribui com a remoção de calor de todo o tecido cerebral, e conseqüentemente, o fluxo sanguíneo cerebral é considerado o principal mecanismo de remoção de calor do cérebro, principalmente em regiões subcorticais como o tálamo ([SUKSTANSKII, YABLONSKIY, 2006](#)). É importante ressaltar que a remoção do calor via fluxo sanguíneo ocorre mediante a existência de gradiente de temperatura entre as estruturas cerebrais e o sangue. Nessa condição, quanto menor a temperatura do sangue arterial, maior a remoção de calor do cérebro ([KIYATKIN, BROWN, WISE, 2002](#); [SUKSTANSKII, YABLONSKIY, 2006](#)).

Os modelos que associam hipertermia e desempenho físico sugerem que o aumento da temperatura do cérebro é o fator preponderante na redução da motivação para o exercício. Nesse sentido, [Caputa, Feistkorn, Jessen \(1986\)](#) realizaram um experimento com o objetivo de distinguir a influência das temperaturas cerebral e sistêmica sobre o desempenho físico. Para tanto, estes autores manipularam de forma independente estas temperaturas em cabras. Quando a temperatura do cérebro foi fixada, foram observadas temperaturas de tronco acima de 43,5°C e nenhuma alteração do desempenho. Por outro lado, quando a temperatura do tronco foi fixada e a temperatura cerebral mantida entre 42-43°C, foi observado redução do desempenho, podendo ser inferido que a elevação da temperatura no SNC inibe a atividade motora e protege o cérebro do dano térmico. Resultados semelhantes foram encontrados no estudo de [Caputa, Kamari, Wachulec \(1991\)](#), no qual a temperatura cerebral de ratos foi menor que a temperatura sistêmica ao final de 30 minutos de exercício físico. Contrapondo os trabalhos mencionados acima, outros estudos que utilizaram ratos não encontraram um papel determinante da temperatura cerebral sobre o desempenho ([Fuller, Carter, Mitchell, 1998](#); [Walters et al, 2000](#)). [Walters et al \(2000\)](#) pré-aqueceram os animais antes do exercício físico e registraram variações de 39 a 42,8°C para temperatura cerebral e de 39 a 42,1°C para temperatura sistêmica. O desempenho físico dos ratos foi inversamente correlacionado com estas temperaturas no início do exercício. Não foram observadas diferenças entre estas correlações ($r = 0,73$ e $0,74$; temperatura cerebral e sistêmica, respectivamente) que sugerisse maior importância de alguma região na

determinação da interrupção do esforço. Portanto, não há consenso na literatura em relação a um possível efeito de neuroproteção que determine o desempenho físico.

Nos estudos de termorregulação e exercício físico, a medida da temperatura cerebral geralmente é realizada no hipotálamo (CAPUTA, FEISTKORN, JESSEN, 1986; CAPUTA, KAMARI, WACHULEC, 1991; FULLER, CARTER, MITCHELL, 1998; WALTERS *et al*, 1998; 2000; HASEGAWA *et al*, 2008), região considerada como o centro termorregulatório. Entretanto, em poucos trabalhos foi realizada a medida de temperatura em núcleos envolvidos no controle motor. Walters *et al* (1998), além da temperatura hipotalâmica, mediram também a temperatura do córtex cerebral, região relacionada com a atividade motora, durante o exercício, e verificaram que o gradiente de temperatura pré-exercício (de aproximadamente 1°C) foi mantido durante toda a corrida na esteira em ambiente quente, sendo a temperatura cortical menor que a temperatura hipotalâmica. A manutenção do gradiente térmico entre estas estruturas foi atribuído a maior perda de calor cortical por radiação, uma vez que o córtex está próximo da superfície irradiante da cabeça. Portanto, entendemos ser importante para os estudos de termorregulação e exercício físico, a medida da temperatura cerebral em regiões motoras mais profundas, cuja dissipação de calor é predominantemente dependente do fluxo sanguíneo cerebral. Tendo em vista a relação existente entre a elevação da temperatura e a interrupção do esforço, é possível que a elevação da temperatura nessas regiões motoras profundas se correlacione mais com o desempenho físico.

Dentre as áreas envolvidas no controle motor, o tálamo, uma das estruturas que compõem o diencefalo (HERRERO, BARCIA, NAVARRO, 2002), é uma das regiões mais ativadas com o exercício físico. Logo após o exercício na esteira, HOLSCHNEIDER *et al*, (2003) injetaram o marcador radioativo relacionado ao fluxo sanguíneo cerebral [¹⁴C]-iodoantipirina em ratos e verificaram aumento na atividade neural de regiões relacionadas com circuitos motores, como o córtex motor primário, o tálamo ventro-lateral e a linha média do cerebelo. Por ser uma das regiões mais ativadas pelo exercício físico e uma das maiores estruturas subcorticais envolvidas no controle motor, o tálamo foi a região escolhida para a medida da temperatura cerebral no presente estudo.

A principal função do tálamo está relacionada ao controle motor. A ativação talâmica induzida pelo exercício físico é atribuída ao aumento da atividade de circuitos motores. O complexo nuclear VL-VM, formado pelos núcleos ventral-lateral e ventral-medial, pode ser considerado o principal núcleo talâmico motor. Existem projeções do corpo estriado e do cerebelo para o complexo nuclear VL-VM, que por sua vez, as retransmitem ao córtex, formando os circuitos motores gânglio-talâmico-cortical (GTC) e cerebelo-talâmico-cortical (CbTC) (HOLSCHNEIDER *et al*, 2007).

O tálamo é considerado um centro de retransmissão das vias sensoriais e motoras para o córtex (HERRERO, BARCIA, NAVARRO, 2002). Por meio das projeções do tálamo para o córtex, as informações de órgãos sensoriais como a pele e os olhos e as informações motoras provenientes de regiões cerebrais como o cerebelo e o gânglio basal são percebidas (GUILLERY, 1995). Além disso, existem projeções corticais para núcleos talâmicos, indicando a existência de influência mútua entre essas duas estruturas (GUILLERY, 1995; GUILLERY, SHERMAN, 2002). Existem dois tipos distintos de núcleos de retransmissão talâmica. Baseado na inervação aferente estes núcleos são classificados como: núcleo de primeira ordem e núcleo de ordem superior. O núcleo de primeira ordem recebe fibras aferentes subcorticais de órgãos sensoriais periféricos e de áreas centrais motoras como cerebelo e gânglio basal. Os núcleos talâmicos geniculado lateral, geniculado medial, ventro-lateral e complexo ventro-basal são conhecidos por receberem estas aferências subcorticais. O núcleo de ordem superior recebe aferências corticais das células piramidais da quinta camada. Núcleos talâmicos como o médio-dorsal, posterior-lateral e pulvinar são conhecidos por receberem estas aferências corticais. Ambos os núcleos de retransmissão talâmica recebem aferências modulatórias de células corticais da sexta camada (ver FIGURAS 1 e 2). Essa modulação está relacionada com a via inibitória que passa pelo núcleo reticular talâmico. Nesta via, as fibras corticais inervam às células reticulares por meio de neurônios glutamatérgicos excitatórios. Das células reticulares, por sua vez, partem projeções gabaérgicas inibitórias para as regiões corticais correspondentes (GUILLERY, 1995).

As aferências para os núcleos de primeira ordem e de ordem superior possuem ramificações diretas para centros motores (GUILLERY, SHERMAN, 2002). Ambos os núcleos de retransmissão talâmica enviam eferências para o córtex. As células

piramidais corticais que projetam para o núcleo de ordem superior também contribuem para a formação de duas vias importantes para o controle motor, via motora córtico-espinal e via motora córtico-nuclear (CONSENZA, 2005) (ver FIGURAS 1 e 2).

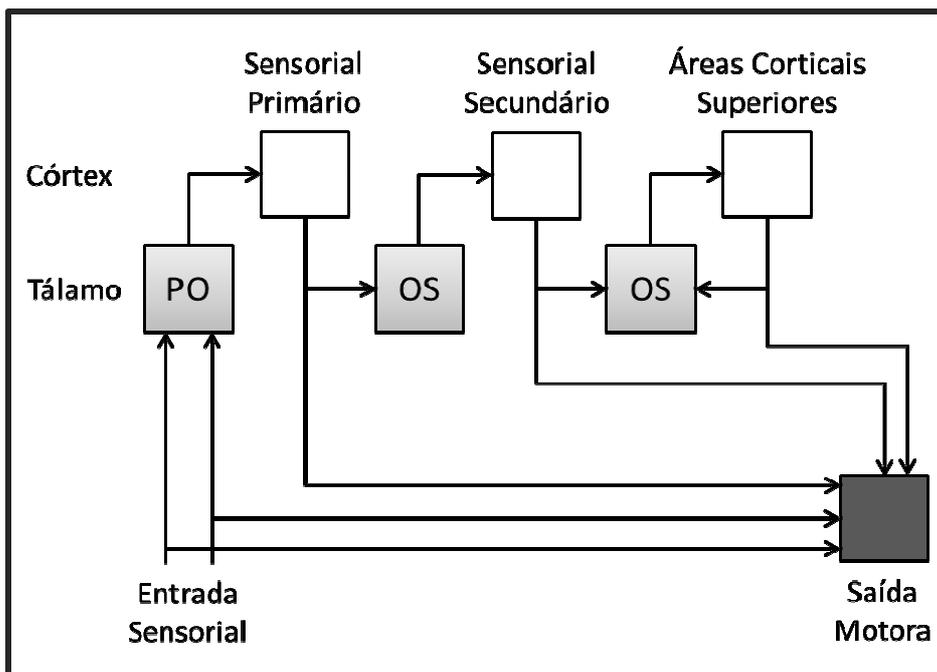


FIGURA 1 - Esquema das conexões talâmicas. O núcleo de retransmissão talâmica de primeira ordem (PO) recebe fibras sensoriais periféricas e as retransmite ao córtex, enquanto o núcleo de retransmissão talâmica de ordem superior (OS) recebe e envia fibras para o córtex. As aferências para os núcleos de primeira ordem e de ordem superior possuem ramificações diretas para centros motores.

Fonte: ADAPTADO GUILLERY, SHERMAN, 2002, p. 1810.

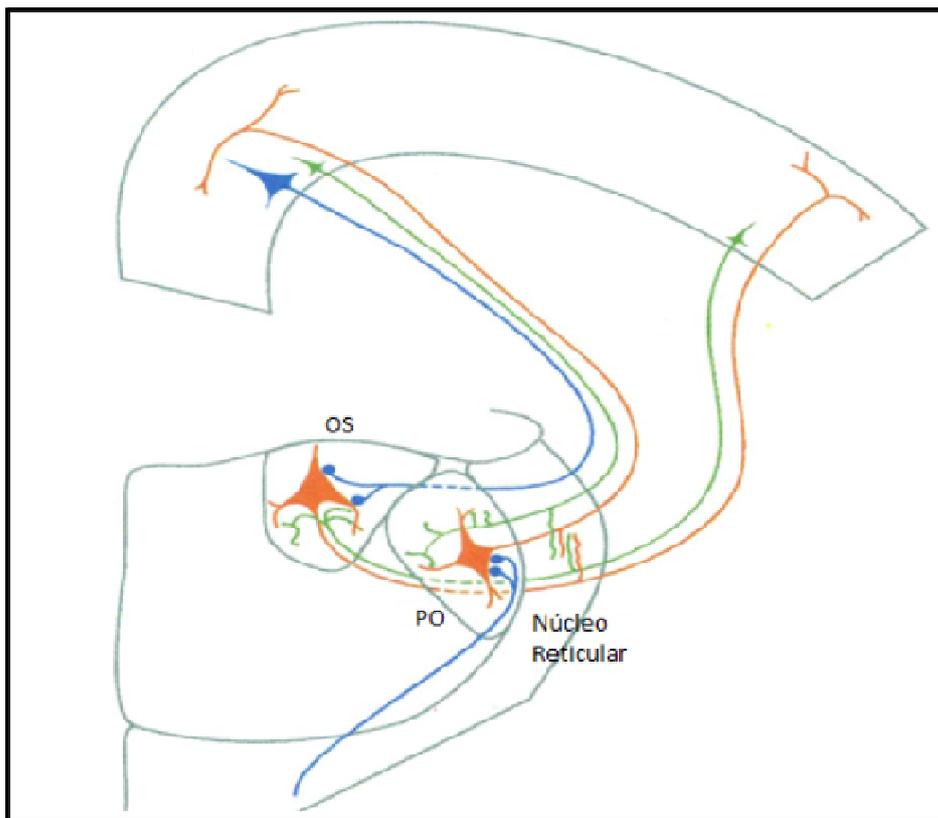


FIGURA 2 - Representação esquemática das conexões dos núcleos de retransmissão talâmica de primeira ordem (PO) e de ordem superior (OS). As fibras aferentes estão demonstradas na cor azul; as fibras piramidais da sexta camada na cor verde e as fibras tálamo-corticais na cor laranja.

Fonte: ADAPTADO GUILLERY, 1995, p. 589.

1.2 Termorregulação, sistema colinérgico e exercício

A temperatura interna é regulada por mecanismos comportamentais e respostas efetoras autonômicas. As alterações na temperatura interna estimulam termorreceptores, os quais projetam para o SNC, que integra estes estímulos e desencadeia respostas termorregulatórias de ajustes. A área pré-ótica do hipotálamo é considerada o principal centro de termorregulação. Essa área integra os estímulos térmicos aferentes e desencadeia respostas efetoras autonômicas como a secreção da saliva, alterações do tônus vasomotor cutâneo, tremor, e termogênese sem tremor (NAGASHIMA *et al*, 2000; ROMANOVSKY, 2007).

Em ratos, a vasodilatação da pele das patas, espalhamento de saliva e micção voluntária contribuem para a dissipação de calor. Durante o exercício físico, o

principal mecanismo pelo qual estes animais regulam sua temperatura interna é por meio da dissipação de calor pela cauda (SHELLOCK, RUBIN, 1984). Durante o repouso, a cauda dissipa cerca de 25% do calor produzido, enquanto durante o exercício esses valores podem aumentar para 40% (YOUNG, DAWSON, 1982; SHELLOCK, RUBIN, 1984).

A dissipação de calor pela pele resulta das alterações no fluxo sanguíneo, o qual é modulado predominantemente pela atividade vasoconstritora adrenérgica. O tônus vasomotor é o resultado do balanço entre os fatores endoteliais vasodilatadores, os fatores locais vasoconstritores e a atividade simpática nas células musculares lisas dos vasos. O aumento do tônus vasomotor cutâneo, induzido pelo aumento da atividade simpática, aumenta a resistência do vaso, reduzindo o fluxo sanguíneo. Já a diminuição da atividade simpática reduz o tônus vasomotor, aumentando a condutância vascular e conseqüentemente o fluxo sanguíneo (O'LEARY, JOHNSON, TAYLOR, 1985; ROWEL, SHEPHERD, 1996).

É demonstrado que a estimulação dos neurônios colinérgicos centrais modula a dissipação de calor e conseqüentemente a temperatura interna durante o exercício físico. Tal afirmação é baseada em estudos demonstrando que a injeção central de agonistas colinérgicos, como a fisostigmina, atenua o aumento da temperatura interna induzido pelo exercício físico. Os ligantes dos receptores de acetilcolina e os inibidores da acetilcolinesterase formam um grupo de fármacos conhecidos como colinomiméticos, uma vez que potencializam os efeitos da acetilcolina. Os colinomiméticos são classificados de acordo com o tipo de receptor ativado (muscarínico ou nicotínico) e conforme o mecanismo de ação (direto: ativação dos receptores colinérgicos; indireto: inibição da hidrólise da acetilcolina). A fisostigmina, fármaco usado no presente estudo para estimular os neurônios colinérgicos centrais, exerce seus efeitos por mecanismo indireto, ao inibir a hidrólise de acetilcolina por meio da inibição da acetilcolinesterase. A fisostigmina é uma amina terciária lipossolúvel que se liga a acetilcolinesterase e forma uma enzima carbamilada, mais estável e resistente à hidrólise que a acetilcolina. Deste modo, a concentração de acetilcolina nas sinapses aumenta e, conseqüentemente, potencializa seu efeito metabólico (KATZUNG, MASTERS, TREVER, 2009).

A administração de agonistas colinérgicos diminui a temperatura interna de ratos durante o repouso, por meio da redução da taxa metabólica e aumento do fluxo sanguíneo cutâneo. Estes efeitos termorregulatórios são dose-dependentes e mediados pela estimulação dos receptores muscarínicos (LIN *et al*, 1979; LIN, WANG, CHANDRA, 1980).

Em estudos do nosso laboratório, a injeção intracerebroventricular de fisostigmina (5×10^{-2} M) em ratos atenuou a elevação da temperatura interna durante o exercício físico sem alterar o desempenho (RODRIGUES *et al*, 2004, 2008; PIRES *et al*, 2007). Durante o exercício físico, a produção de calor não é alterada pela injeção ICV de fisostigmina (RODRIGUES *et al*, 2004), portanto, a atenuação da elevação da temperatura interna é atribuída a mecanismos que facilitam a dissipação de calor (RODRIGUES *et al*, 2004; PIRES *et al*, 2007). Como a localização dos receptores muscarínicos no SNC é difusa, é difícil prever a distância que um fármaco alcança em uma concentração efetiva após sua injeção ICV (LIMA, COIMBRA, MARUBAYASHI, 1998). Contudo, existem dados mostrando que os receptores muscarínicos localizados no núcleo hipotalâmico ventro-medial participam do circuito neural envolvido na ativação dos mecanismos de dissipação de calor durante o exercício físico (WANNER *et al*, 2007).

A injeção ICV de fisostigmina também induz respostas cardiovasculares durante o repouso e o exercício físico em ratos. Este fármaco aumenta a resistência vascular nos leitos viscerais, o que resulta em aumento da pressão arterial sistêmica (PIRES *et al*, 2007; 2010). Além disso, já foi demonstrado que a injeção central de agonistas colinérgicos aumenta a atividade simpática em vários órgãos, incluindo o coração, fígado e pâncreas (GOTOH, SMYTHE, 1991). Durante o exercício, a injeção ICV de fisostigmina aumenta simultaneamente a temperatura da pele da cauda e a pressão arterial diastólica, indicando que a estimulação dos neurônios colinérgicos aumenta o fluxo sanguíneo cutâneo, apesar de também induzir aumento na resistência dos grandes leitos vasculares (PIRES *et al*, 2007). O aumento da dissipação de calor induzido pela estimulação colinérgica central durante o exercício físico é precedido por aumento da pressão arterial média e abolido pela desnervação sino-aórtica. Portanto, é possível concluir que os efeitos da estimulação colinérgica central sobre

a termorregulação durante o exercício são modulados pelos barorreceptores arteriais (PIRES *et al*, 2010).

A temperatura abdominal representa a temperatura média dos tecidos corporais (SHELLOCK, RUBIN, 1984) e, em ratos, é determinada principalmente pelo calor produzido pelos tecidos periféricos e o calor dissipado / conservado por meio de alterações no fluxo sanguíneo cutâneo. Por outro lado, a temperatura cerebral fornece um índice da atividade metabólica local e é determinada principalmente pelo balanço entre o calor produzido pelo metabolismo cerebral e o calor removido via fluxo sanguíneo cerebral (KIYATKIN, BROWN, WISE, 2002; NYBO, SECHER, NIELSEN, 2002; SUKSTANSKII, YABLONSKIY, 2006). O fluxo sanguíneo, que pode contribuir com a remoção de calor no cérebro e no abdômen durante o exercício físico, está sob o controle de dois mecanismos: neural e fatores metabólicos locais. A importância relativa destes mecanismos varia entre os diferentes tecidos. Na vasculatura da pele e de regiões esplâncnicas, por exemplo, predomina a regulação neural, enquanto na vasculatura do cérebro e do músculo esquelético, os fatores metabólicos locais (LEVY, 2004).

Até o momento a resposta da temperatura cerebral durante o exercício físico sob estimulação colinérgica central não é conhecida. Visto que a regulação do fluxo sanguíneo cutâneo e cerebral estão sob o predomínio de mecanismos diferentes (leito cutâneo – mecanismo neural; leito cerebral – fatores metabólicos locais) e que a estimulação colinérgica central parece alterar mais os fatores que regulam a vasculatura cutânea em relação aos fatores que regulam a vasculatura cerebral, é possível que as temperaturas abdominal e cerebral sejam alteradas de maneira diferente durante o exercício físico após a injeção ICV de fisostigmina. Assim, formulamos a seguinte hipótese no presente estudo: durante o exercício físico, a estimulação dos receptores colinérgicos centrais irá modular de forma diferente as temperaturas cerebral e abdominal.

1.3 Objetivo

O objetivo do presente estudo foi verificar se a estimulação colinérgica central modifica de maneira diferente as temperaturas talâmica e abdominal durante o exercício físico. Como a medida da temperatura talâmica não foi realizada durante o exercício físico até o momento, realizamos um experimento prévio com o objetivo de verificar se a temperatura talâmica responde ao exercício em diferentes intensidades.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Cuidados éticos

Os procedimentos experimentais realizados neste estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CETEA) da Universidade Federal de Minas Gerais (Protocolo 133/11).

2.2 Animais

Foram utilizados 97 ratos Wistar pesando entre 250 e 350 g, provenientes do Centro de Bioterismo do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG. Destes animais, 21 foram aproveitados nos experimentos (21,65%). A perda de animais decorreu principalmente de dificuldades na padronização das cirurgias. Em alguns animais a cânula talâmica posicionou-se fora dos limites do tálamo, em outros a cânula ICV posicionou-se fora do ventrículo lateral, mesmo com a confirmação do posicionamento da cânula pela decida da coluna de salina durante a cirurgia. Além disso, alguns ratos apresentaram problemas motores após a cirurgia, sugerindo lesão de algum núcleo motor com o posicionamento da cânula guia. Diante disto, foram feitos ajustes nas coordenadas, que foram mantidos mediante a observação do posicionamento correto das cânulas e ausência de problemas motores nos animais. Outros animais não aproveitados no estudo foram perdidos durante a cirurgia; adoeceram durante os experimentos; não se habituaram a corrida na esteira; ou não correram durante as situações experimentais.

Antes das cirurgias, os animais foram mantidos coletivamente em caixas de polietileno (até 5 ratos por caixa) e após as cirurgias foram transferidos para caixas individuais. As caixas foram forradas com maravalha e limpas a cada 2 dias. Os ratos foram mantidos no biotério de experimentação do Laboratório de Fisiologia do Exercício da Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional da UFMG (EEFFTO/UFMG) com temperatura seca controlada em aproximadamente

24°C, sob um ciclo claro-escuro de 14-10h (com as luzes acessas às 05:00 A.M.). Os animais tiveram livre acesso a ração granulada (Nuvilab – CR1) e água.

2.3 Cálculo amostral

O número de animais por grupo foi definido a partir do coeficiente de variação (CV) do tempo total de exercício (TTE), variável de maior instabilidade do estudo.

Em um protocolo de exercício semelhante ao realizado no presente estudo (corrida na esteira à 24 m/min com 5% de inclinação em ambiente termoneutro) a média (\bar{x}) do TTE foi de 33,1 min e o desvio padrão (S) de 10,8 min (WANNER, 2006). A partir desses valores foi calculado o CV ($CV = S / \bar{x} = 33\%$) para o cálculo da amostragem. Considerando o CV de 33%, utilizamos média de 100 e desvio padrão de 33. Após determinar que o intervalo de confiança da média (Δ) de 30% seria suficiente para um número amostral viável, a amostragem por grupo foi calculada

com base na equação: $\Delta = t_{\alpha,gl} \times \frac{S}{\sqrt{n}}$ (ver cálculos abaixo).

<p><u>Cálculo amostral</u></p> $\Delta = t_{\alpha,gl} \times \frac{S}{\sqrt{n}}$ <p>$\Delta = 30$ (intervalo de confiança da média oscilando em 30%)</p> $30 = 2,262 \times \frac{33}{\sqrt{n}}$ <p>$n = 6$ (animais por grupo)</p>	<p><u>Onde:</u></p> <p>Δ = oscilação do intervalo de confiança da média;</p> <p>$t_{\alpha,gl}$ = distribuição de t segundo os graus de liberdade do erro e a probabilidade do erro tipo I (t tabelado);</p> <p>S = desvio padrão</p> <p>n = número amostral por grupo</p>
---	---

FIGURA 3 - Cálculo amostral

A partir do CV da variável de maior instabilidade, permitindo uma oscilação de 30% no intervalo de confiança da média, foram necessários 6 ratos por grupo para a caracterização das respostas analisadas.

2.4 Delineamento experimental

O estudo foi dividido em dois experimentos. Dezoito animais, separados em três grupos, seriam necessários para a caracterização das respostas analisadas. Devido à inviabilidade de se trabalhar com um animal por vez até que fosse confirmado o posicionamento da cânula guia, teste utilizado como critério para inclusão dos animais no estudo, os experimentos foram conduzidos com seis a oito animais sendo testados simultaneamente. Desta forma, três animais além do necessário para a caracterização das respostas analisadas, foram incluídos no estudo conforme demonstrado na FIGURA 4:

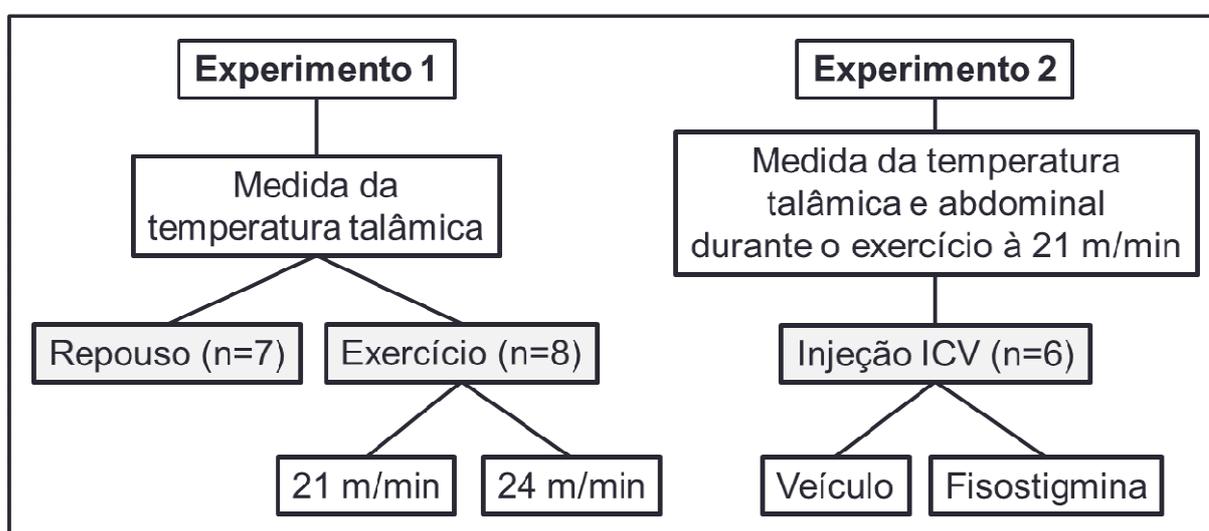


FIGURA 4 - Delineamento experimental referente aos experimentos 1 e 2.

No primeiro experimento (FIGURA 5), foi implantada uma cânula guia no tálamo para a medida da temperatura cerebral dos ratos. Após retornarem ao peso pré-cirúrgico (aproximadamente 5 dias), um grupo de ratos foi submetido a situação experimental de repouso, enquanto outro grupo foi submetido ao exercício em duas intensidades diferentes após serem familiarizados ao ambiente experimental.

No grupo repouso, a temperatura talâmica foi registrada durante aproximadamente 4h em um caixa que permitiu livre movimentação do rato. A menor temperatura talâmica registrada continuamente durante o período de 60 minutos foi considerada a temperatura talâmica de repouso do animal.

No grupo exercício, a temperatura talâmica foi medida durante o exercício na esteira com velocidade mantida em 21 ou 24m/min, com 5% de inclinação, até a interrupção voluntária do esforço (IVE). Estas intensidades de exercício foram escolhidas a partir do estudo de [Rodrigues et al, 2003](#) e corresponderam a aproximadamente 70 e 80% do $VO_{2max.}$, respectivamente ([SONNE; GALBO, 1980](#)).

Após a última situação experimental, os animais foram anestesiados, eutanasiados por perfusão transcardíaca e, em seguida, foram iniciados os procedimentos para a análise histológica do tecido cerebral e subsequente verificação do posicionamento da cânula guia. O experimento 1 teve como objetivo padronizar a medida da temperatura talâmica durante o exercício físico e verificar se esta responde a alterações na intensidade do esforço.

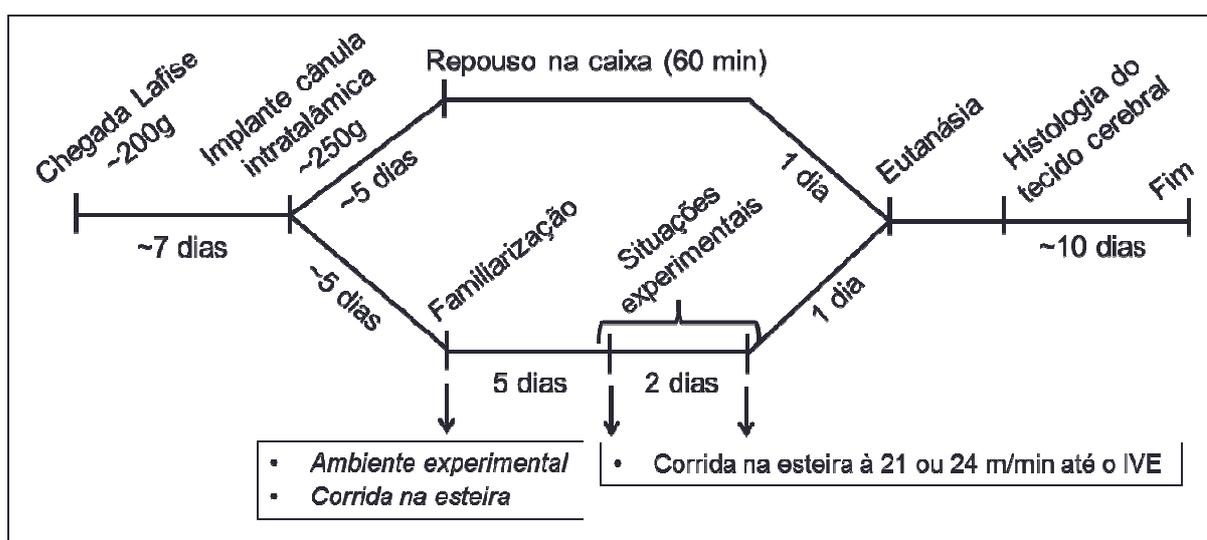


FIGURA 5 - Linha do tempo referente ao experimento 1.

No segundo experimento (FIGURA 6), foram implantadas uma cânula guia no tálamo e um sensor no abdômen dos ratos para medida da temperatura, e ainda, uma cânula guia no ventrículo lateral para a estimulação colinérgica central. Após a recuperação das cirurgias, os animais foram familiarizados à corrida na esteira e ao ambiente experimental.

Nas situações experimentais, foi realizada uma injeção ICV de 2 μ L de fisostigmina (10^{-2} M) ou veículo (álcool 10% em salina) imediatamente antes do exercício na esteira à 21m/min, com 5% de inclinação até o IVE. Nesse experimento, foram medidas as temperaturas do tálamo e do abdômen. O exercício foi realizado a 21

m/min para que o efeito da fisostigmina sobre a temperatura abdominal, com duração aproximada de 40 minutos (PIRES, 2008), pudesse ser observado e comparado com o efeito da fisostigmina sobre a temperatura talâmica.

Após a última situação experimental, foi implantado um cateter na artéria aorta para a medida da pressão arterial. Logo após a última situação experimental, os animais foram eutanasiados, sob anestesia, por perfusão transcardíaca e, em seguida, foram iniciados os procedimentos para a análise histológica do tecido cerebral e subsequente verificação do posicionamento da cânula guia. Os animais nos quais a cânula ICV não estava corretamente posicionada no ventrículo lateral não foram utilizados no estudo.

O objetivo do experimento 2 foi verificar se a estimulação colinérgica central modula de forma independente as temperaturas talâmica e abdominal. Este delineamento permitiu a observação do efeito da fisostigmina, bem como a discriminação de um possível efeito da solução utilizada para diluir o fármaco (veículo), sobre as temperaturas do tálamo e do abdômen.

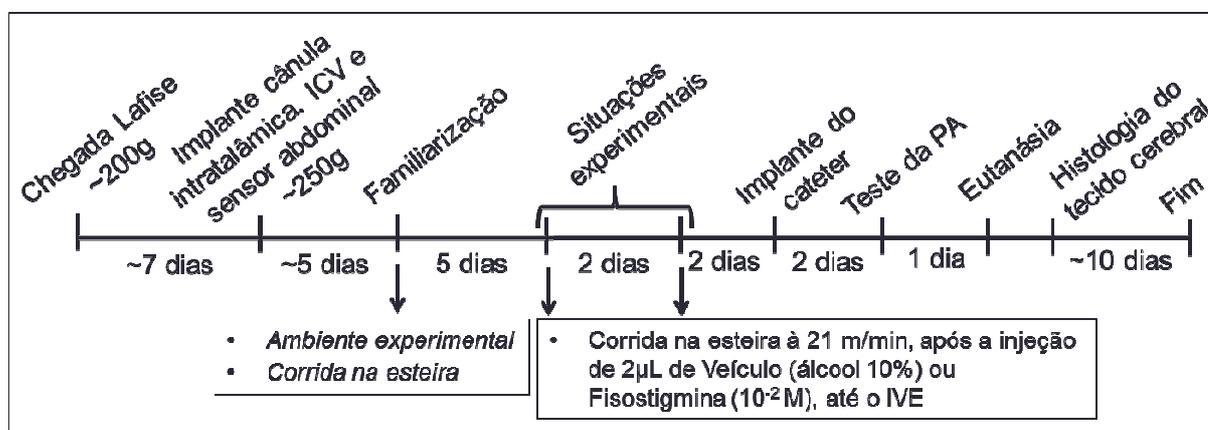


FIGURA 6 - Linha do tempo referente ao experimento 2.

2.5 Procedimentos cirúrgicos

2.5.1 *Implante do sensor de temperatura na cavidade abdominal e das cânulas talâmica e ventricular*

Os ratos foram anestesiados com a mistura de Ketamina (90 mg/kg de massa corporal, via intraperitoneal) e Xilazina (10,5 mg/kg de massa corporal, via intraperitoneal). Em seguida, receberam 0,1 mL de antibiótico (24.000 UI, Pentabiótico Veterinário para animais de pequeno porte, via intramuscular) em cada pata traseira e 0,1 mL de analgésico (Banamine injetável, 1,1 mg/kg de peso corporal, via subcutânea) em uma das patas traseiras.

Para o implante do sensor na cavidade abdominal, foi realizada a incisão de aproximadamente 2 cm na pele da região ventral, seguida de outra incisão na linha alba do músculo reto abdominal, que possibilitou o acesso à cavidade abdominal. Após a inserção do sensor, o músculo abdominal e a pele foram suturados separadamente ([WANNER, 2006](#); [PIRES, 2008](#)).

Para o implante das cânulas intratalâmica (18 mm de comprimento; 0,7 mm de diâmetro interno; 0,8 mm de diâmetro externo) e intracerebroventricular (16 mm de comprimento; 0,6 mm de diâmetro interno; 0,7 de diâmetro externo), a porção superior da cabeça foi depilada e após assepsia local foi realizada uma incisão longitudinal na pele e no tecido subcutâneo. Em seguida, foi injetado 0,5 mL de anestésico local e vasoconstritor (cloridrato de lidocaína 2% e adrenalina 1:200.000) no perióstio, permitindo seu afastamento e remoção da superfície do crânio. Os ratos foram fixados no estereotáxico para pequenos animais (Insight Equipamentos – modelo ETX/99, SP, Brasil) e submetidos à craneotomia, na qual foram feitos 4 furos. Em dois furos foram fixados parafusos de relojoeiro. Nos outros dois, as cânulas foram posicionadas no tálamo (AP: - 2,3 mm; ML: 1,5 mm; DV: - 5,5 mm) e no ventrículo lateral direito (AP: - 0,7 mm; ML: - 1,5 mm; DV: - 4,0 mm) de acordo com as coordenadas do atlas de [Paxinos e Watson \(2007\)](#). As cânulas foram fixadas aos parafusos e a superfície do crânio com resina acrílica auto-polimerizante (Dental Vip, SP, Brasil). Para evitar o entupimento, na extremidade externa das cânulas

cerebrais foram colocados mandris de polietileno com fios de nylon de tamanho correspondente ao comprimento de cada cânula.

No experimento 1 foi feito somente o implante da cânula talâmica. Os implantes do sensor de temperatura na cavidade abdominal e das cânulas talâmica e ventricular foram realizados somente no experimento 2.

2.5.2 Implante do cateter na artéria aorta

Após a última situação experimental, os animais do experimento 2 foram submetidos ao implante de cateter na artéria aorta esquerda para o registro da pressão arterial. O cateter utilizado foi confeccionado com tubos de polietileno de diâmetros internos e comprimentos diferentes (PE 50: 0,58 mm e 7 cm; PE 10: 0,28 mm e 3,5 cm), soldados por aquecimento. O cateter foi preenchido com salina heparinizada (0,1mL de heparina – Liquemine®, 25000 UI, Roche, RJ, Brasil – diluída em 20 mL de salina), para evitar sua obstrução, e ocluído com pino de aço.

Para o implante do cateter, os animais foram anestesiados e receberam antibiótico e analgésico de forma semelhante ao procedimento cirúrgico descrito anteriormente. Após assepsia e depilação da pele da região ventral do pescoço, foi feita uma incisão de aproximadamente 1 cm no local. O tecido adiposo subcutâneo foi afastado e o músculo esternocleidomastóideo rebatido de forma a possibilitar o acesso à carótida. Esta foi exposta e isolada dos tecidos adjacentes. O cateter de polietileno foi inserido na aorta (3,5 cm a partir da incisão), amarrado imediatamente abaixo do local de incisão e novamente amarrado na parte superior da artéria aorta com linha de sutura. Após a depilação da região cervical dorsal do rato, foi realizada uma incisão de aproximadamente 0,5 cm. Utilizando-se trocater, o cateter foi inserido subcutaneamente, exteriorizado na região dorsal e fixado à pele com linha de sutura (PIRES, 2008; WANNER, 2006).

Embora a análise histológica do tecido cerebral confirme a posição da cânula no ventrículo lateral, a fisostigmina ou veículo podem não ser injetados, em função de uma possível obstrução na cânula guia. Portanto, o objetivo deste procedimento

cirúrgico foi possibilitar a realização de um teste que demonstre o efeito conhecido da fisostigmina sobre o sistema cardiovascular e desta forma, confirmar os procedimentos de injeção.

2.6 Familiarização ao exercício na esteira rolante

Após a recuperação da cirurgia, os animais foram familiarizados a correr em uma esteira rolante para pequenos animais (Columbus Instruments, OH, EUA) com velocidade constante de 18 m/min e 5% de inclinação, por 5 minutos, durante 5 dias consecutivos. Essa intensidade de exercício corresponde à aproximadamente 65% do VO_{2max} (SONNE; GALBO, 1980). A familiarização foi realizada em uma sala com temperatura ambiente mantida em aproximadamente 24°C. Antes da familiarização à esteira rolante, os animais foram pesados e em seguida, submetidos a contensão manual por aproximadamente 2 minutos para manuseio dos mandris.

O objetivo da familiarização foi permitir aos animais saber em qual direção correr e adaptá-los ao ambiente experimental.

2.7 Injeção no ventrículo cerebral lateral

A estimulação dos receptores colinérgicos foi realizada por meio da injeção de 2 μ L de solução de fisostigmina a (10^{-2} M – Sigma, St. Louis, EUA) e o controle foi realizado por meio da injeção de veículo (álcool 10% em salina). As injeções foram realizadas utilizando-se uma seringa (Hamilton Company, Nevada, EUA) de 5 μ L conectada com um tubo de polietileno (PE 10) a uma agulha injetora. A injeção foi realizada durante 1 minuto e a agulha injetora foi mantida conectada à cânula guia por mais 1 minuto para evitar variações na pressão hidrostática. Em todos os experimentos as injeções foram realizadas 2 minutos antes do início do exercício.

A escolha da concentração do fármaco foi baseada no estudo de Pires (2008) que injetou 3 concentrações de fisostigmina (5^{-2} , 10^{-2} e 40^{-2} M) e verificou que a injeção ICV de fisostigmina a 10^{-2} M induziu maior efeito termorregulatório sem modificação

no tempo de exercício. Como durante a diluição da fisostigmina foi adicionado 10% de álcool, nos animais do grupo controle foi injetada solução de álcool 10% em salina (NaCl 0,9 M).

2.8 Protocolo experimental

Para minimizar a variação circadiana, os experimentos foram realizados entre 07:00 – 11:00 A.M. No dia do experimento, os animais foram retirados do biotério, conduzidos até a sala experimental e pesados.

No experimento 1, após a pesagem, o sensor de temperatura cerebral foi inserido no tálamo, via cânula intratálâmica, e o rato foi colocado na esteira, onde correu à 21 ou 24 m/min até o IVE. Durante o exercício a temperatura talâmica foi registrada a cada 30 segundos.

No experimento 2, após a pesagem, foi injetado 2 µL de veículo ou fisostigmina (10^{-2} M), via cânula ICV, e o sensor de temperatura cerebral foi inserido no tálamo através da cânula intratálâmica. Em seguida o rato foi colocado na esteira, onde correu à 21 m/min até o IVE. Durante o exercício, além da temperatura talâmica, a temperatura abdominal foi registrada a cada 30 segundos.

Ambos os experimentos foram randomizados; a temperatura do ambiente foi monitorada continuamente; a temperatura no interior da esteira foi registrada a cada 5 minutos; e o tempo total de exercício foi registrado.

2.9 Variáveis medidas

2.9.1 Temperatura abdominal

Sensores de temperatura (Mini-Mitter, OR, EUA, modelo G2 E-Mitter, série 4000) com 1,5 cm de comprimento x 0,6 cm de largura, pesando 1,1 g foram utilizados para a medição da temperatura abdominal. Este sensor é energizado por meio de

impulsos magnéticos gerados pela placa receptora (ER-4000 Energizer/Receiver, Mini-Mitter Co.).

O sensor de temperatura é um capacitor oscilatório de resistência simples, cujo valor da resistência é dependente da temperatura. A placa receptora (56 cm x 29 cm x 7 cm) foi posicionada ao lado da esteira rolante. Além de energizar os sensores, a placa receptora capta sua frequência de pulso e as envia para um decodificador, que por sua vez repassa as informações para um software (Vital View, Mini-Mitter) o qual armazena os dados.

A temperatura abdominal foi utilizada como um índice da temperatura interna.

2.9.2 Temperatura cerebral

A temperatura cerebral foi medida utilizando-se um termistor (NTC Catheter Sensor – Beta ThermCorp., MA, EUA) encapado com tubo de polietileno (PE50) em toda sua extensão, com exceção da extremidade sensível à temperatura, a qual foi posicionada no tálamo antes do início das situações experimentais. O tubo de polietileno garantiu o posicionamento adequado do sensor de temperatura na região pretendida em função de sua fixação à cânula guia e ainda maior vida útil do instrumento de medição ao longo dos experimentos.

O sensor de temperatura cerebral utilizado é formado por dois fios de níquel (aproximadamente 1 m de comprimento e 0,1 mm de diâmetro cada) isolados com poliéster em toda sua extensão. Estes fios isolados são mantidos paralelos e envoltos por micro tubos de poliamida por meio de resina epóxi. Em uma extremidade, os fios se unem e são re-isolados com poliéster e revestidos com vidro (1 mm de comprimento e 0,5 mm de diâmetro), esta extremidade é denominada junção de medição e corresponde a parte do sensor sensível às alterações de temperatura. Na extremidade oposta à junção de medição, o isolamento dos fios de níquel foi removido e estes foram soldados a um conector P4, o qual possibilitou a ligação do sensor de temperatura ao multímetro (Fluke 289, FVF, WA, EUA), aparelho utilizado para a aquisição e armazenamento dos dados.

O termistor, ou resistor termo-sensível, é um tipo de resistor que varia sua resistência elétrica em função de variações na temperatura. O termistor utilizado no estudo é de coeficiente negativo de temperatura, tipo NTC (Negative Temperature Coefficient), no qual o valor da resistência, conduzido pelos fios de níquel, diminui à medida que a temperatura aumenta.

Os dados foram medidos e armazenados pelo multímetro em quilo-ohm (k Ω). Para transformar os dados de resistência elétrica (k Ω) para temperatura ($^{\circ}\text{C}$) foi utilizada a equação linear:

$$\Delta R = k \cdot \Delta T$$

Onde:

ΔR = Variação da resistência

k = Coeficiente de temperatura (valor de referência da calibração do sensor fornecido pelo fabricante)

ΔT = Variação da temperatura

A temperatura talâmica foi utilizada como outro índice da temperatura corporal interna.

2.9.3 *Tempo total de exercício*

O tempo total de exercício foi medido em minutos e correspondeu ao intervalo de tempo entre o início do exercício e o momento em que este foi interrompido. A medida foi realizada utilizando-se um cronômetro com precisão de 0,01 segundos. O critério para determinar a interrupção do esforço foi a permanência do animal sobre a grade de estímulo elétrico (0,5 mV e 0,5 mA) por mais de 10 segundos, o qual demonstra a incapacidade de manutenção da intensidade do exercício (LIMA, 2000; LIMA *et al.*, 1998; 2001).

2.10 Variáveis de controle

2.10.1 Massa corporal

A massa corporal dos animais foi registrada a cada 2 dias e também antes da realização de cada experimento utilizando-se uma balança eletrônica (Filizola®) com precisão de 0,5 g. A variação da massa corporal foi utilizada como índice do estado de saúde do animal.

2.10.2 Temperatura ambiente

A temperatura seca da sala, onde foram realizados os experimentos, foi mantida em aproximadamente 24 °C. Para o monitoramento desta temperatura foi utilizado uma sonda (YSI, modelo 401) posicionada próxima à esteira.

2.10.3 Temperatura no interior da esteira

A temperatura seca no interior da esteira foi medida a cada 30 segundos de exercício, utilizando-se uma sonda (YSI, modelo 401) posicionada na parte superior da esteira e acoplada a um teletermômetro. Durante o repouso na caixa, a sonda foi posicionada o mais próximo do interior da caixa.

2.11 Teste da pressão arterial

Após a recuperação da cirurgia de implante do cateter na aorta, o animal foi submetido ao teste de aumento da pressão arterial induzido pela injeção central de fisostigmina. No dia dessa situação experimental, o rato foi conduzido até a sala experimental, seu cateter foi conectado ao transdutor de pressão e então, o animal

permaneceu em repouso por 40 minutos em sua caixa. Ainda em repouso, recebeu a injeção de veículo (álcool 10%) e após 40 minutos, de fisostigmina (10^{-2} M). Após as injeções, a pressão arterial pulsátil foi medida continuamente e armazenada pelo sistema de aquisição de dados (Biopac System Inc., modelo MP100 ACE, CA, EUA).

Para a medida da pressão pulsátil, o cateter implantado no rato foi conectado ao transdutor de pressão, que por sua vez, foi conectado ao sistema de aquisição de dados. O transdutor de pressão foi posicionado ao lado da caixa, na altura do coração do rato. As variáveis cardiovasculares, frequência cardíaca, pressão arterial média, sistólica e diastólica foram automaticamente calculadas via software (Acknowledge 37.0), a partir da pressão arterial pulsátil.

2.12 Eutanásia

Após a última situação experimental, os animais foram anestesiados, da mesma maneira descrita nos procedimentos cirúrgicos e em seguida eutanasiados por perfusão transcardíaca. Posteriormente, foi realizada uma incisão na região ventral abdominal para a retirada do sensor de temperatura.

A incisão abdominal foi ampliada até a região torácica e o diafragma foi seccionado, permitindo acesso ao coração. Após a canulação da artéria aorta, foi realizada uma pequena incisão no átrio direito para sangria. Em seguida o animal foi perfundido com 200 mL de salina 0,9%, seguido por 200 mL de solução de formaldeído 4%. Após perfusão o cérebro foi extraído e armazenado em solução de formaldeído 4% por pelo menos 8 horas e mantido em solução de formaldeído 4% e sacarose 30% por 4 dias antes da secção do tecido ([WANNER, 2006](#)).

2.13 Verificação do posicionamento das cânulas

O cérebro dos animais foi seccionado em fatias de 60 μ m à -20°C , por meio de um micrótomo de congelamento (Microm HM 505 N). As fatias foram dispostas em lâminas gelatinizadas e, em seguida, coradas em solução de cresil violeta 0,13%. O

cresil violeta é um corante sintético utilizado para marcar principalmente os núcleos cerebrais. Por ser um corante básico, liga-se aos componentes ácidos do citoplasma neuronal, tais como ribossomos ricos em RNA, os núcleos e nucléolos de células nervosas. Antes de serem mergulhadas em solução de cresil violeta, as lâminas foram hidratadas em água destilada. Após o procedimento de coloração, as lâminas foram seguidamente mergulhadas em água destilada e em soluções graduadas de etanol para retirar o excesso de corante. Por fim, as lâminas foram mantidas em uma solução reveladora de xilol para facilitar sua visualização no microscópio (WANNER, 2006).

A localização das cânulas foi verificada por comparação com o atlas de Paxinos e Watson (2007).

2.14 Análise estatística

Os dados foram expressos como média \pm erro padrão da média (EPM). O tempo total de exercício entre os testes foi comparado pelo teste t de *Student*. A análise da temperatura talâmica ao longo do tempo, entre as intensidades e a comparação da área sob a curva das temperaturas (talâmica e abdominal) entre as injeções (veículo e fisostigmina) foi realizada por meio da ANOVA com medidas repetidas e dois fatores de variação. Quando foi verificada a diferença na variância entre os testes, os dados foram submetidos ao teste post-hoc de Tukey.

A análise das temperaturas (talâmica e abdominal) ao longo do tempo e entre as injeções (veículo e fisostigmina) foi realizada por meio da ANOVA com parcelas subdivididas. Os ratos e as injeções representaram as parcelas, enquanto o tempo de exercício representou as subparcelas. Quando foi verificada a diferença na variância entre os testes, os dados foram submetidos ao teste post-hoc das diferenças mínimas significativas.

A correlação da área sob a curva das temperaturas (talâmica e abdominal) entre as injeções (veículo e fisostigmina) foi calculada por meio do coeficiente de correlação de Pearson.

Nos dois experimentos, os dados foram analisados até o momento em que o rato com menor desempenho físico interrompeu o exercício. O nível de significância adotado foi $p < 0,05$.

3 RESULTADOS

3.1 Posicionamento das cânulas

A FIGURA 7 mostra a fotomicrografia de secções transversas do cérebro que foram coradas com cresil violeta, demonstrando o posicionamento da cânula no tálamo (A), ventrículo (B) e fora do ventrículo (C).

No painel A é possível visualizar a ponta da cânula guia, ventral ao hipocampo e lateral ao terceiro ventrículo, sugerindo seu posicionamento no tálamo. Nos experimentos 1 e 2 foram utilizados somente os animais com a ponta da cânula intratálâmica e a ponta do sensor posicionados na região do tálamo.

O painel B mostra a lesão feita pela cânula guia no córtex cerebral e no corpo caloso, antes de alcançar o ventrículo lateral, sugerindo o posicionamento correto da cânula ICV. Entretanto em alguns ratos a cânula não alcançou o ventrículo lateral. O painel C mostra a localização da cânula em um destes animais, posicionada dorsalmente ao ventrículo lateral, no corpo caloso.

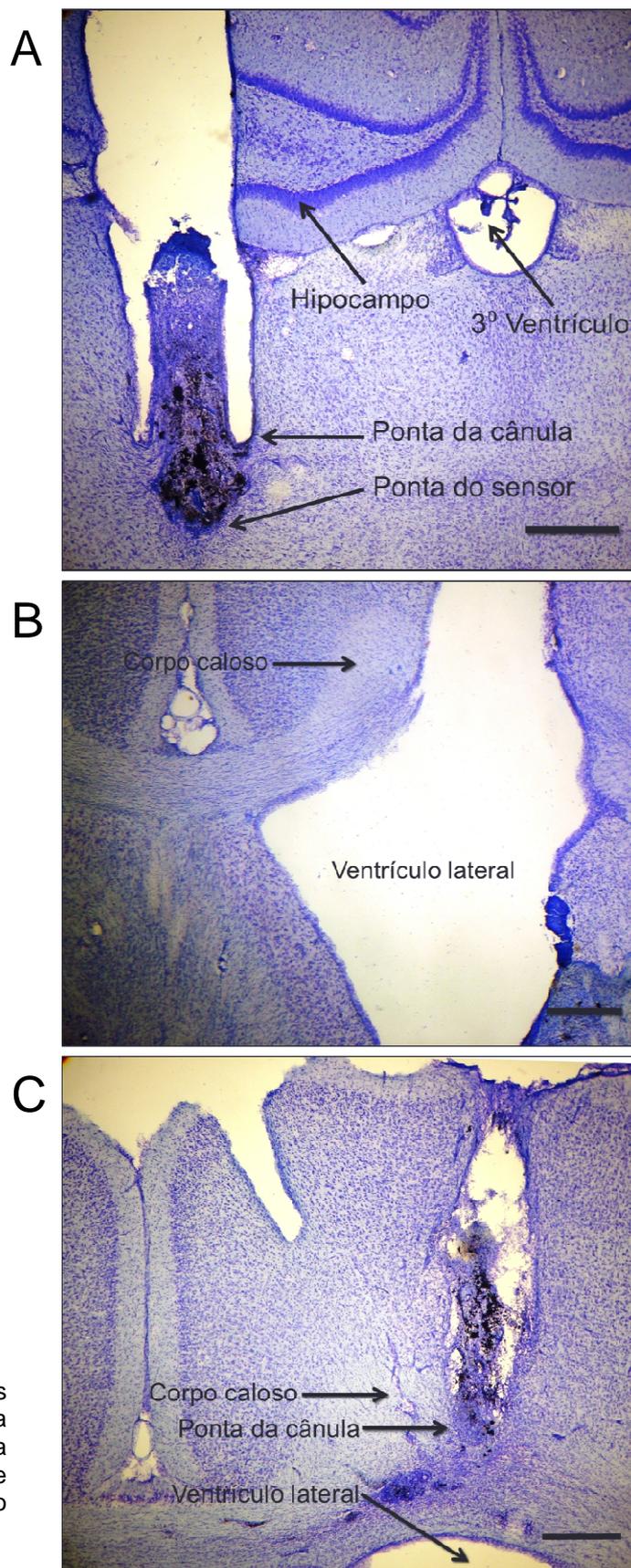


FIGURA 7 - Fotomicrografia de secções transversas cerebrais coradas com violeta cresil demonstrando o posicionamento da cânula no tálamo (A), ventrículo lateral (B) e fora do ventrículo lateral (C). O comprimento da barra horizontal corresponde à 500 μ m.

3.2 Parâmetros de controle

A TABELA 1 apresenta as variáveis de controle medidas nas situações experimentais em que os animais correram à 21 ou 24 m/min até o IVE (Experimento 1) e quando foram submetidos à injeção de veículo (álcool 10%) ou fisostigmina (10^{-2} M) antes de correrem à 21 m/min até o IVE (Experimento 2). A massa corporal pré-exercício e a temperatura medida no interior da esteira não foram diferentes entre as situações testadas em nenhum dos dois experimentos.

TABELA 1

Valores da massa corporal pré-exercício e temperatura no interior da esteira, nos experimentos em que os animais correram à 21 e 24 m/min com 5% de inclinação até o IVE Experimento 1; e que foram submetidos à injeção ICV de veículo (álcool a 10%) ou fisostigmina (10^{-2} M) antes do exercício à 21 m/min com 5% de inclinação até o IVE – Experimento 2.

Parâmetros de Controle			
Variáveis	Experimento 1 (n = 8)		Significância
	21 m/min	24 m/min	
Massa corporal (g)	293,0 ± 7,3	284,0 ± 7,8	$p > 0,05$
Temperatura na esteira inicial (°C)	24,4 ± 0,1	24,2 ± 0,1	$p > 0,05$
Temperatura na esteira final (°C)	24,4 ± 0,1	24,3 ± 0,1	$p > 0,05$
Variáveis	Experimento 2 (n = 6)		Significância
	Veículo (álcool 10%)	Fisostigmina (10^{-2} M)	
Massa corporal (g)	310,3 ± 4,7	314,7 ± 5,9	$p > 0,05$
Temperatura na esteira inicial (°C)	24,1 ± 0,1	24,4 ± 0,2	$p > 0,05$
Temperatura na esteira final (°C)	24,9 ± 0,1	25,0 ± 0,2	$p > 0,05$

As variáveis expressam média ± EPM. Temperatura da esteira (TE).

3.3 Tempo total de exercício – Experimento 1

A FIGURA 8 apresenta os valores médios do tempo total de exercício dos animais que correram a 21 e 24 m/min na esteira. O aumento na intensidade do exercício

antecipou o IVE em 41,2% ($p < 0,001$). A 21 m/min os ratos correram $75,3 \pm 8,4$ min e a 24 m/min correram $44,2 \pm 4,9$ min.

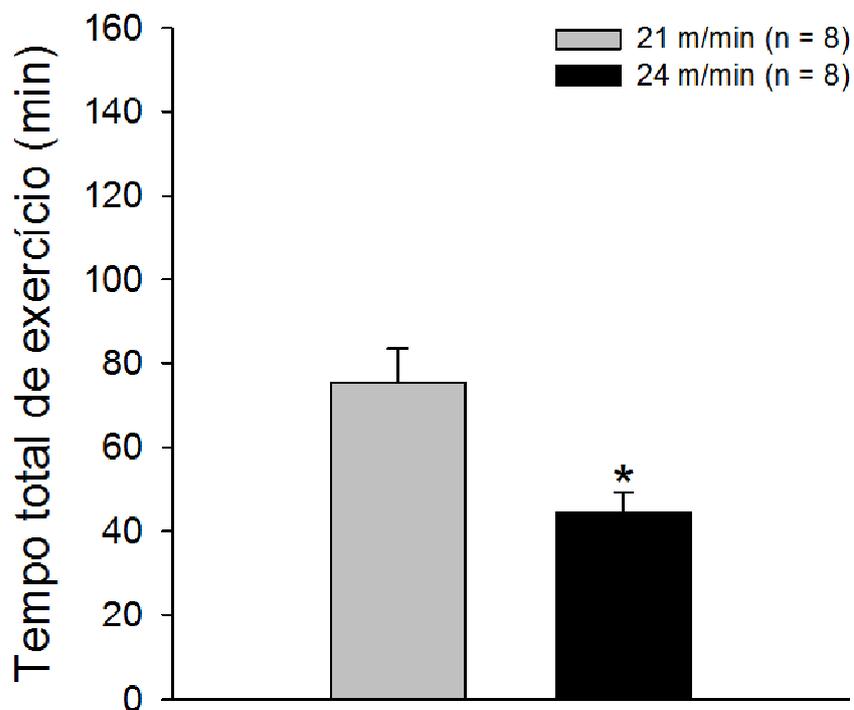


FIGURA 8 - Tempo total de exercício de ratos que correram a 21 ou 24 m/min na esteira com 5% de inclinação. Os valores expressam média \pm EPM. * = $p < 0,05$ entre as intensidades

3.4 Temperatura talâmica durante o repouso e o exercício – Experimento 1

A FIGURA 9 apresenta os valores médios da temperatura talâmica durante o repouso na caixa e durante o exercício na esteira a 21 e 24 m/min.

A temperatura talâmica não variou ao longo dos 60 minutos de repouso na caixa ($p = 0,68$). Durante este período a média da temperatura do tálamo foi $37,33^{\circ}\text{C}$.

O exercício aumentou a temperatura talâmica que permaneceu elevada até o IVE. A 21 m/min, a temperatura talâmica aumentou a partir do 4^o minuto de exercício ($37,97 \pm 0,05^{\circ}\text{C}$, min 4 vs $37,46 \pm 0,04^{\circ}\text{C}$, min 0; $p < 0,05$), assim como a 24 m/min ($38,04 \pm 0,04^{\circ}\text{C}$, min 4 vs $37,55 \pm 0,04^{\circ}\text{C}$, min 0; $p < 0,05$). A temperatura talâmica não foi diferente entre as intensidades até o minuto 32, assim como no IVE ($39,59 \pm 0,33^{\circ}\text{C}$, 21 m/min vs $39,61 \pm 0,33^{\circ}\text{C}$, 24 m/min; $p = 0,89$).

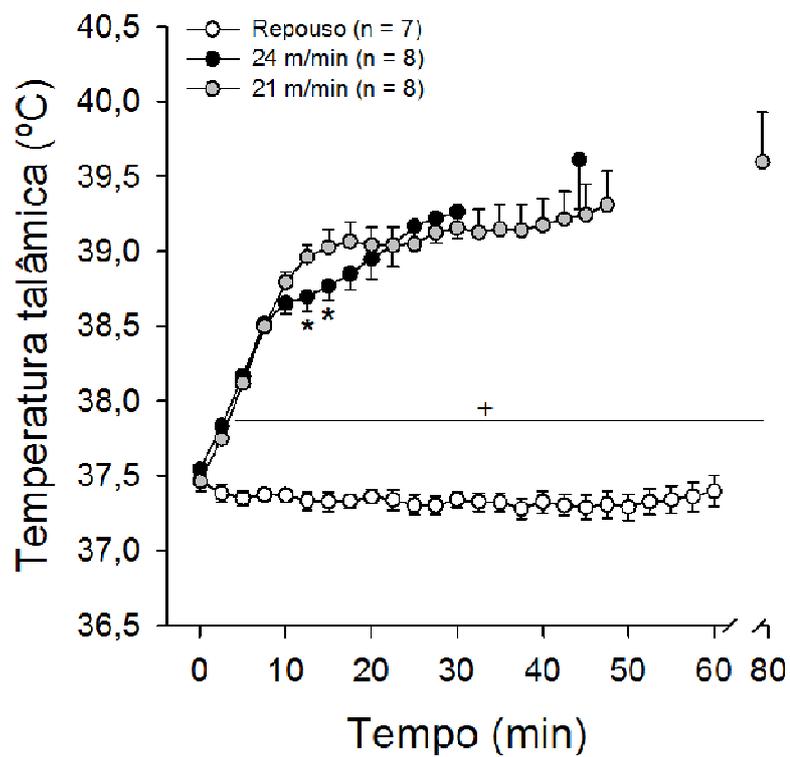


FIGURA 9 - Temperatura talâmica durante 60 min de repouso na caixa e durante o exercício na esteira a 21 ou 24 m/min com 5% de inclinação até o IVE. Os valores expressam média \pm EPM. + = $p < 0,05$ em relação ao minuto zero; * = $p < 0,05$ entre as intensidades.

3.5 Tempo total de exercício – Experimento 2

A FIGURA 10 apresenta os valores médios do tempo total de exercício após a injeção de veículo (álcool 10%) ou de fisostigmina (10^{-2} M) no ventrículo lateral. A injeção de fisostigmina no ventrículo lateral não alterou o desempenho dos ratos ($113,3 \pm 24,9$ min VEIC vs. $103,4 \pm 26,9$ min FIS; $n = 6$; $p = 0,475$).

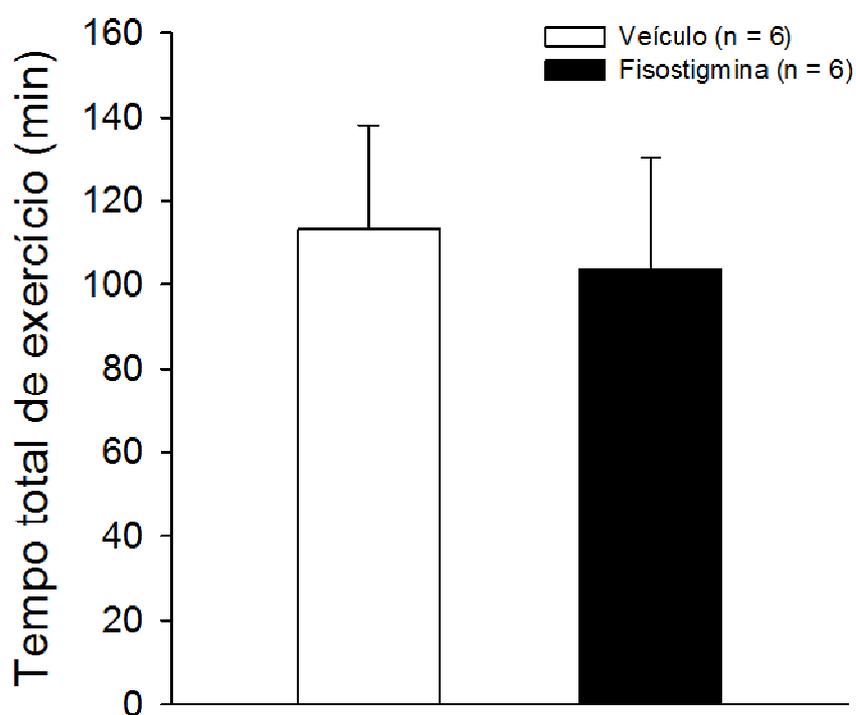


FIGURA 10 - Efeito da injeção de veículo (álcool 10%) ou fisostigmina (10^{-2} M) no ventrículo lateral sobre o tempo total de exercício em ratos. Os valores expressam média \pm EPM.

3.6 Temperatura talâmica e abdominal dos animais injetados com fisostigmina no ventrículo lateral

A FIGURA 11 apresenta os valores médios da temperatura talâmica (painel A) e abdominal (painel B) durante o exercício na esteira a 21m/min com 5% de inclinação até o IVE, após a injeção de veículo (álcool 10%) ou fisostigmina (10^{-2} M) no ventrículo lateral. No início do exercício, imediatamente após as injeções, a temperatura talâmica não foi diferente entre os testes ($37,48 \pm 0,08^{\circ}\text{C}$ FIS vs $37,60 \pm 0,12^{\circ}\text{C}$ VEIC; $p > 0,05$), assim como a temperatura abdominal ($36,84 \pm 0,09^{\circ}\text{C}$ FIS vs $36,90 \pm 0,12^{\circ}\text{C}$ VEIC; $p > 0,05$).

O exercício aumentou a temperatura talâmica que permaneceu aumentada até o IVE. Quando os ratos foram injetados com veículo, a temperatura talâmica aumentou a partir do 3^o minuto de exercício ($37,94 \pm 0,12^{\circ}\text{C}$, min 3 vs $37,60 \pm 0,12^{\circ}\text{C}$, min 0; $p < 0,05$), contudo, com a injeção de fisostigmina, o aumento foi observado após o 16^o minuto de exercício ($37,81 \pm 0,15^{\circ}\text{C}$, min 16 vs $37,48 \pm 0,08^{\circ}\text{C}$, min 0; $p < 0,05$). O aumento da temperatura talâmica foi menor com a injeção de fisostigmina do minuto 5,5 até o 29^o minuto de exercício ($37,78 \pm 0,14^{\circ}\text{C}$ FIS vs $39,02 \pm 0,10^{\circ}\text{C}$ VEIC, min 15; $p < 0,05$). No IVE não foi verificada diferença na temperatura talâmica entre os testes ($39,79 \pm 0,18^{\circ}\text{C}$ FIS vs $39,67 \pm 0,21^{\circ}\text{C}$ VEIC; $p > 0,05$).

O exercício também aumentou a temperatura abdominal que permaneceu elevada até o IVE. Posteriormente a injeção de veículo, a temperatura abdominal aumentou a partir do 6^o minuto de exercício ($37,24 \pm 0,16^{\circ}\text{C}$, min 6 vs $36,90 \pm 0,12^{\circ}\text{C}$, min 0; $p < 0,05$) e após a injeção de fisostigmina, o aumento foi observado a partir do 12^o minuto de exercício ($37,18 \pm 0,07^{\circ}\text{C}$, min 12 vs $36,84 \pm 0,09^{\circ}\text{C}$, min 0; $p < 0,05$). A elevação da temperatura abdominal foi menor com a injeção de fisostigmina do minuto 9 até o minuto 37,5 de exercício ($37,50 \pm 0,12^{\circ}\text{C}$ FIS vs $38,69 \pm 0,11^{\circ}\text{C}$ VEIC, min 20; $p < 0,05$). No IVE, a temperatura abdominal não foi diferente entre os testes ($39,56 \pm 0,17^{\circ}\text{C}$ FIS vs $39,50 \pm 0,23^{\circ}\text{C}$ VEIC; $p > 0,05$).

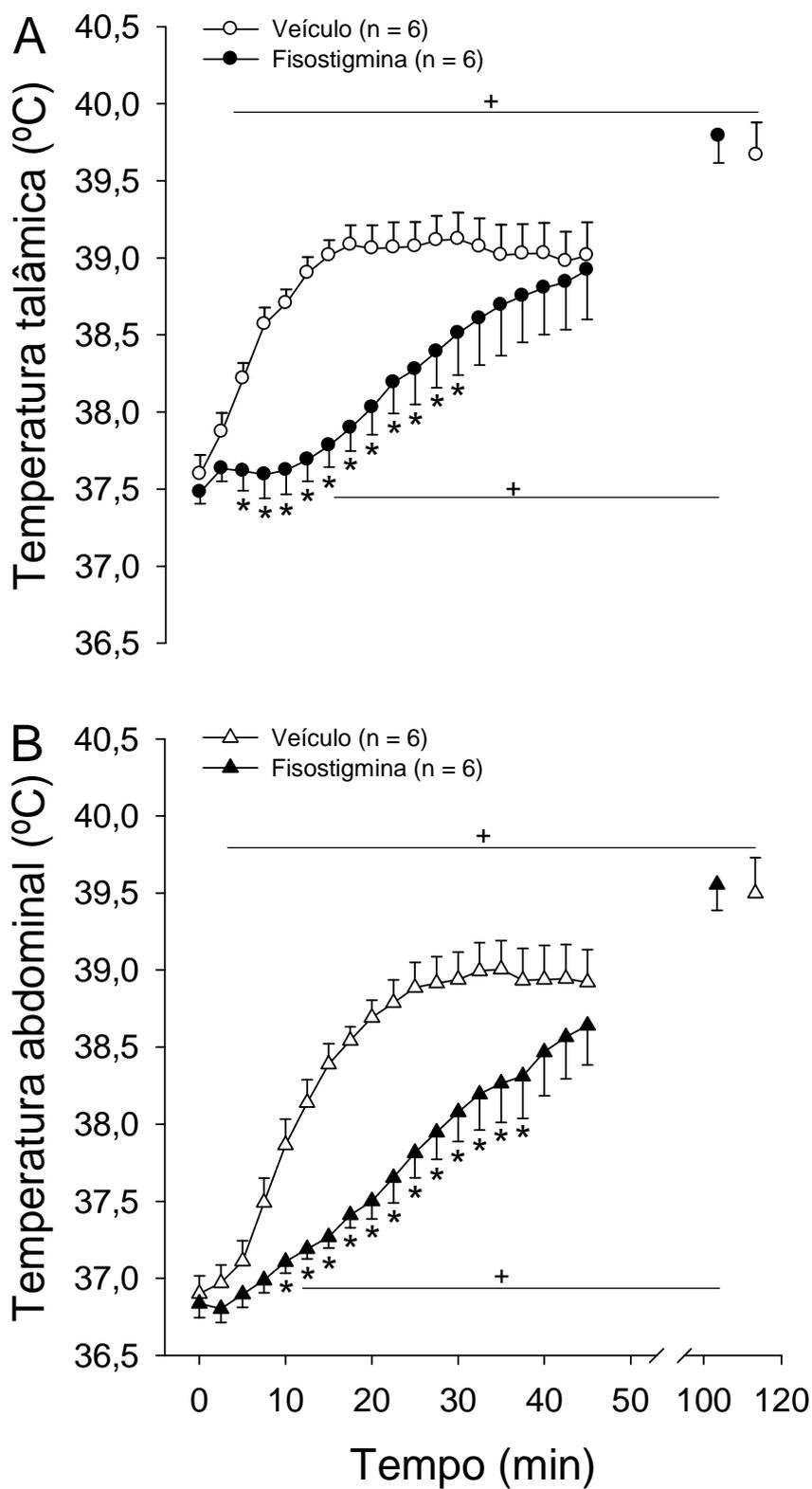


FIGURA 11 - Efeito da injeção de veículo (álcool 10%) ou fisostigmina (10^{-2} M) no ventrículo lateral sobre a temperatura talâmica (**painel A**) e abdominal (**painel B**) de ratos durante o exercício a 21 m/min com 5% de inclinação. Os valores expressam média \pm EPM. + = $p < 0,05$ em relação ao minuto zero; * = $p < 0,05$ em relação ao controle.

Os valores absolutos da temperatura do tálamo e do abdômen (FIGURA 12, coluna esquerda) demonstram que no início do exercício, a temperatura talâmica é maior que a temperatura abdominal tanto no teste controle ($37,60 \pm 0,12^{\circ}\text{C}$ TAL vs $36,90 \pm 0,12^{\circ}\text{C}$ ABD, min 0; $p < 0,05$; FIGURA 12 A), quanto no teste com fisostigmina ($37,48 \pm 0,08^{\circ}\text{C}$ TAL vs $36,84 \pm 0,09^{\circ}\text{C}$ ABD, min 0; $p < 0,05$; FIGURA 12 C). Após a injeção de veículo, a temperatura talâmica foi maior que a abdominal até o minuto 21,5 de exercício ($39,05 \pm 0,16^{\circ}\text{C}$ TAL vs $38,75 \pm 0,14^{\circ}\text{C}$ ABD; $p < 0,05$), em seguida, não foi observada diferença entre as temperaturas do tálamo e abdômen até o 46º minuto de exercício, bem como no IVE ($39,67 \pm 0,21^{\circ}\text{C}$ TAL vs $39,50 \pm 0,23^{\circ}\text{C}$ ABD; $p > 0,05$). Após a injeção de fisostigmina, a temperatura talâmica foi maior que a abdominal até o minuto 26,5 de exercício ($38,35 \pm 0,23^{\circ}\text{C}$ TAL vs $37,89 \pm 0,16^{\circ}\text{C}$ ABD; $p < 0,05$), em seguida, não foi observada diferença entre as temperaturas do tálamo e abdômen até o 46º minuto de exercício, bem como no IVE ($39,79 \pm 0,18^{\circ}\text{C}$ TAL vs $39,56 \pm 0,17^{\circ}\text{C}$ ABD; $p > 0,05$).

Conforme os valores relativos da temperatura do tálamo e do abdômen (FIGURA 12, coluna direita), após a injeção de veículo, a temperatura talâmica aumenta mais que a abdominal do minuto 3,5 ao 9º minuto de exercício ($0,84 \pm 0,07^{\circ}\text{C}$ TAL vs $0,42 \pm 0,09^{\circ}\text{C}$ ABD, min 6,5; $p < 0,05$). Posteriormente não são observadas diferenças entre estas temperaturas até o 19º minuto de exercício. A elevação da temperatura talâmica se torna menor que da temperatura abdominal a partir do minuto 19,5 e essa diferença se mantém até o 46º minuto de exercício ($1,42 \pm 0,19^{\circ}\text{C}$ TAL vs $2,11 \pm 0,20^{\circ}\text{C}$ ABD, min 35; $p < 0,05$), bem como no IVE ($2,07 \pm 0,20^{\circ}\text{C}$ TAL vs $2,60 \pm 0,23^{\circ}\text{C}$ ABD; $p < 0,05$). Por outro lado, após a injeção de fisostigmina, não foi verificado diferença entre a variação da temperatura do tálamo e do abdômen até o 46º minuto exercício, bem como no IVE ($2,31 \pm 0,16^{\circ}\text{C}$ TAL vs $2,72 \pm 0,15^{\circ}\text{C}$ ABD; $p > 0,05$).

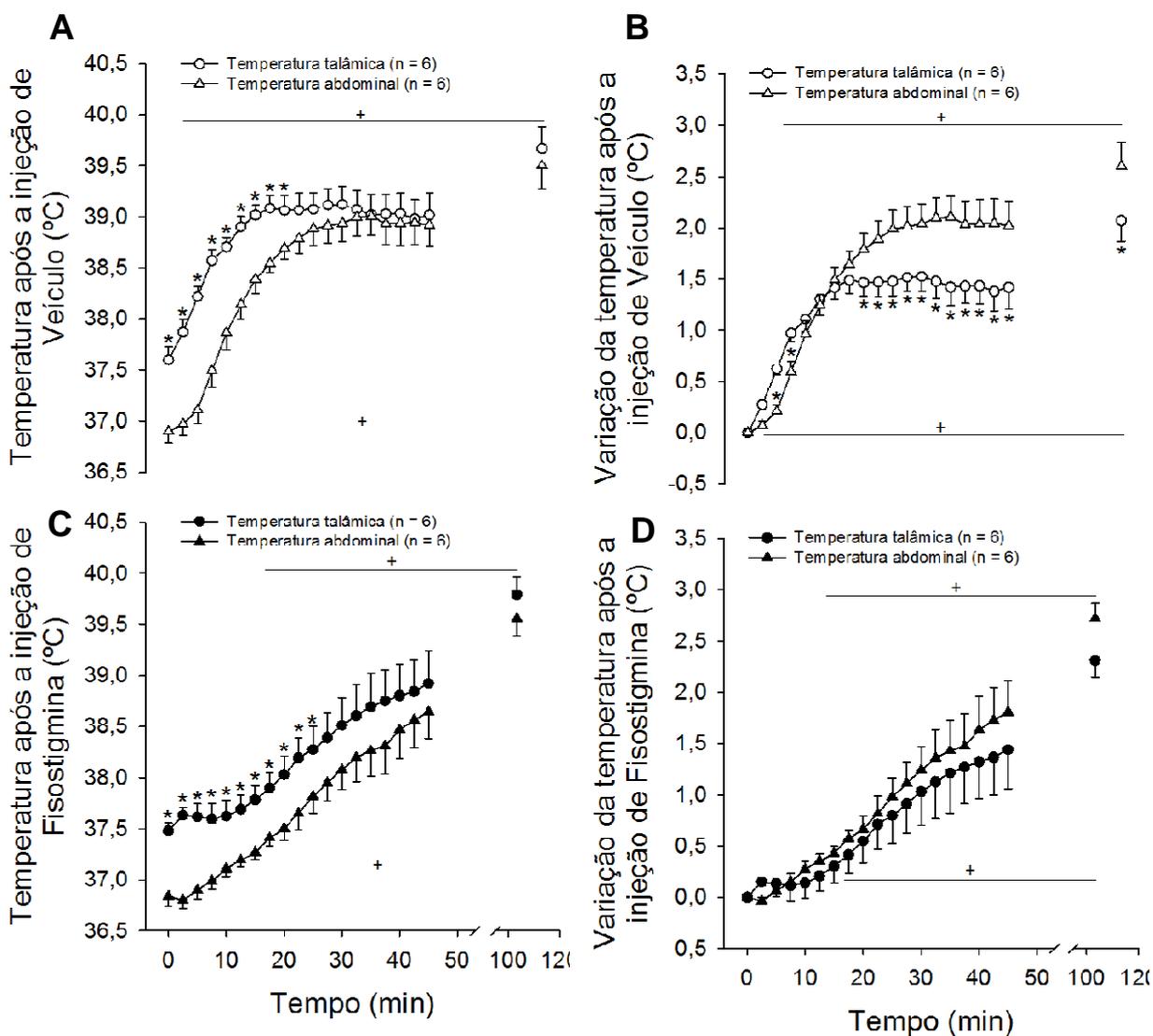


FIGURA 12 - Diferença entre as temperaturas do tálamo e abdômen após a injeção de veículo (álcool 10%; **painel A**) ou fisostigmina (10^{-2} M; **painel C**) no ventrículo lateral – coluna esquerda; e diferença entre as variações da temperatura do tálamo e abdômen após a injeção de veículo (**painel B**) ou fisostigmina (**painel D**) no ventrículo lateral- coluna direita; de ratos durante o exercício a 21 m/min com 5% de inclinação. Os valores expressam média \pm EPM. + = $p < 0,05$ em relação ao minuto zero; * = $p < 0,05$ entre as regiões medidas.

3.7 Área sob a curva da variação da temperatura talâmica e abdominal

A FIGURA 13 (painel direito) apresenta a área sob a curva da variação da temperatura talâmica e abdominal até o 46º minuto de exercício dos animais que foram injetados com veículo (álcool 10%) ou fisostigmina (10^{-2} M) no ventrículo lateral. O tratamento com fisostigmina reduziu a área sob a curva da temperatura talâmica em 43,29% ($32,68 \pm 10,62^{\circ}\text{C FIS}$ vs $57,63 \pm 5,66^{\circ}\text{C VEIC}$; $^{\circ}\text{C} \cdot 46 \text{ min}$; $p < 0,05$) e da temperatura abdominal em 43,53% ($39,65 \pm 7,05^{\circ}\text{C FIS}$ vs $70,21 \pm 6,80^{\circ}\text{C VEIC}$; $^{\circ}\text{C} \cdot 46 \text{ min}$; $p < 0,05$). A menor área sob a curva da temperatura talâmica em relação à temperatura abdominal no controle ($57,63 \pm 5,66^{\circ}\text{C TAL}$ vs $70,21 \pm 6,80^{\circ}\text{C ABD}$; $p < 0,05$), não foi observada com o tratamento de fisostigmina ($32,68 \pm 10,62^{\circ}\text{C TAL}$ vs $39,65 \pm 7,05^{\circ}\text{C ABD}$; $p > 0,05$).

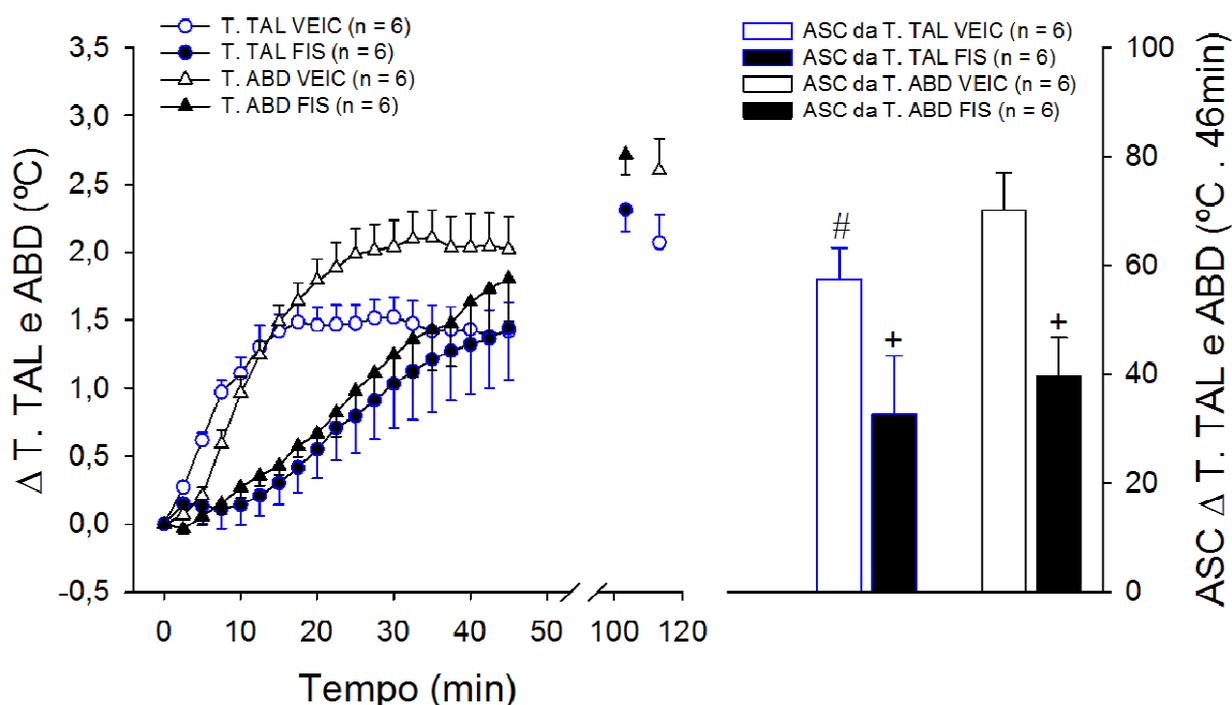


FIGURA 13 - Efeitos da injeção de veículo (álcool 10%) ou fisostigmina (10^{-2}M) no ventrículo lateral sobre a variação das temperaturas talâmica e abdominal (painel esquerdo) de ratos durante o exercício à 21 m/min com 5% de inclinação. No gráfico à direita está representado a área sob a curva das variáveis até o 46º minuto de exercício. Os valores expressam media \pm EPM. + $p < 0,05$ em relação ao controle. # $p < 0,05$ em relação à temperatura abdominal.

3.8 Confirmação da efetividade das injeções ICV (Teste da pressão arterial)

A FIGURA 14 apresenta a variação da pressão arterial média (PAM), durante 40 minutos de repouso na caixa após a injeção de veículo (álcool 10%) ou fisostigmina (10^{-2} M) no ventrículo lateral.

A PAM não se modificou após a injeção de veículo. Por outro lado, a injeção ICV de fisostigmina aumentou a variação da PAM dos ratos durante o repouso quando comparados com o grupo controle. Esse aumento na variação da PAM ocorreu do 7º ao 18º minuto, sendo que o pico de ação do fármaco ocorreu no 9º minuto ($21,5 \pm 9,67$ mmHg FIS vs $0 \pm 4,04$ mmHg VEIC, min 9; $p < 0,05$). Este efeito cardiovascular induzido pela estimulação colinérgica central confirma que a diluição do fármaco e o procedimento de injeção intracerebroventricular foram realizados adequadamente.

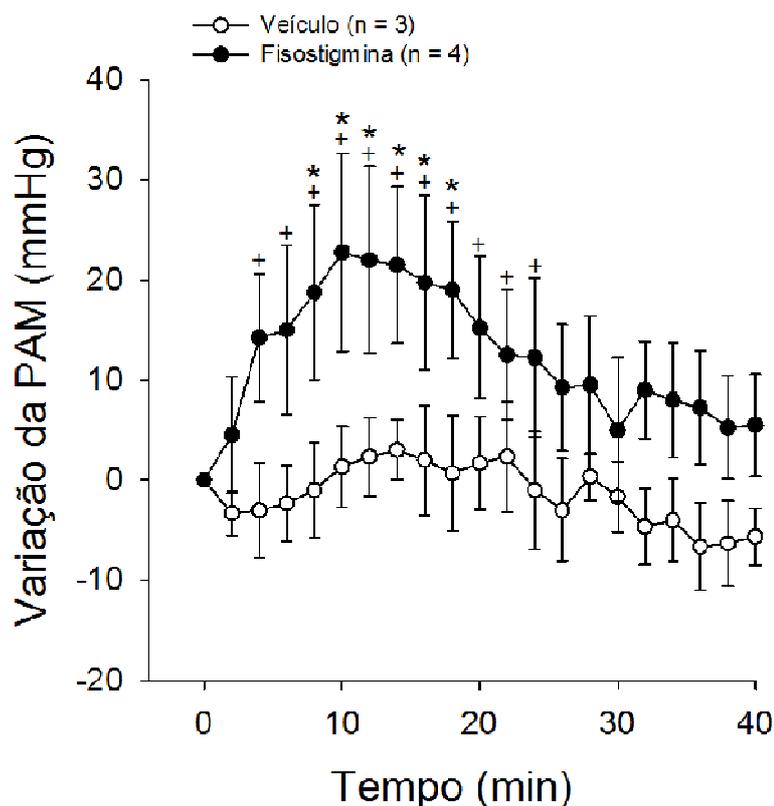


FIGURA 14 - Efeitos da injeção de veículo (álcool 10%) ou fisostigmina (10^{-2} M) no ventrículo lateral sobre a variação da pressão arterial média (PAM) de ratos durante 40 minutos de repouso na caixa. Os valores expressam média \pm EPM. + $p < 0,05$ em relação ao minuto zero. * $p < 0,05$ em relação ao controle.

4 DISCUSSÃO

No presente estudo foi padronizado um método para a medida da temperatura talâmica durante o exercício físico. A medida foi realizada através da inserção aguda de um termistor imediatamente antes do início do exercício por meio de uma cânula guia previamente implantada no tálamo. Este método permitiu demonstrar que a temperatura talâmica aumenta durante o exercício em ambiente temperado. Em um segundo experimento, os ratos foram submetidos à estimulação colinérgica central por meio da injeção ICV de fisostigmina (um inibidor da acetilcolinesterase; a injeção ICV aumenta a dissipação cutânea de calor). A injeção central do agonista colinérgico atenuou em aproximadamente 43% o aumento da temperatura talâmica induzido pelo exercício, bem como o aumento da temperatura abdominal. Este resultado sugere que a estimulação colinérgica central modula proporcionalmente as temperaturas talâmica e abdominal.

4.1 Temperatura talâmica e desempenho físico

No presente estudo o exercício físico induziu aumento na temperatura talâmica (FIGURA 3). Como a medida direta da temperatura cerebral é considerada índice da atividade metabólica local (KIYATKIN *et al*, 2002), nossos dados sugerem que o exercício físico induz aumento da atividade de neurônios na região talâmica. Estes resultados corroboram com os achados de Holschneider *et al* (2003) que encontraram aumento da ativação neural em regiões relacionadas com o controle motor como o córtex, tálamo e cerebelo de ratos após o exercício na esteira. Esses autores sugerem que o exercício na esteira requer a integração de circuitos neurais relacionados com funções motoras e sensoriais. De fato, em ratos injetados com o marcador de radioatividade [¹⁴C]-iodoantipirina, um indicador da atividade neural, foram encontrados aumentos na atividade neural em circuitos motores (córtex motor primário, corpo estriado dorso-lateral, tálamo ventro-lateral, linha média do cerebelo), bem como no córtex somatossensorial após o exercício. Desta forma, a elevação da temperatura talâmica no presente estudo pode ser atribuída, pelo

menos em parte, ao aumento na atividade talâmica da retransmissão motora somada à retransmissão sensorial.

Em relação à retransmissão talâmica sensorial, sabe-se que as vias sensitivas, com exceção da olfatória, são integradas no tálamo antes de atingir o córtex cerebral (CONSENZA, 2005). Existem também evidências funcionais que demonstram a relevância do tálamo na integração multissensorial (TYLL, BUDINGER, NOESSELT, 2011). No presente estudo, é possível que, imediatamente após o rato ter sido colocado na esteira, tenha ocorrido retransmissão talâmica sensorial em função do aumento da atenção focada em estímulos de novidade, sua associação com o comportamento exploratório e estresse emocional. Por outro lado, a retransmissão talâmica motora pode ter induzido aumento da temperatura talâmica durante todo o exercício, como sugere o estudo de Holschneider, Maarek (2008). Estes mapearam circuitos neurais de ratos durante o exercício na esteira e demonstraram que a atividade neural em circuitos motores se mantém elevada durante todo o exercício, enquanto em regiões relacionadas com circuitos sensoriais, a atividade neural diminui em resposta ao exercício.

O complexo nuclear VL-VM do tálamo é considerado a principal região de retransmissão talâmica motora, constituindo um ponto de convergência das vias eferentes do corpo estriado e do cerebelo para o córtex cerebral (HOLSCHNEIDER *et al*, 2007). O tipo, duração, intensidade e frequência do exercício são parâmetros que modulam a atividade neural. É proposto que os circuitos motores gânglio-talâmico-cortical (GTC) e cerebelo-talâmico-cortical (CbTC) estão em equilíbrio durante a realização de tarefas motoras. O circuito GTC predomina durante tarefas motoras guiadas internamente (que requerem atenção), enquanto o circuito CbTC predomina sobre tarefas motoras guiadas externamente (tarefas automatizadas, ou que envolvam movimentos contínuos). À medida que a aprendizagem progride e a tarefa motora se torna mais automática ou guiada externamente, a influência do circuito GTC diminui e a do CbTC predomina (LEWIS *et al*, 2007; HOLSCHNEIDER *et al*, 2007). Visto que a corrida na esteira pode ser considerada uma habilidade contínua e automatizada após o rato ser familiarizado ao exercício físico (HOLSCHNEIDER *et al*, 2007), a atividade do circuito motor CbTC pode ter

contribuído com a elevação da temperatura talâmica durante o exercício físico no presente estudo.

Quando submetemos os animais ao exercício físico contínuo em duas intensidades de esforço, o aumento da velocidade de corrida (21 para 24 m/min) reduziu o desempenho físico em 41% (FIGURA 8). Embora o desempenho tenha diminuído com o aumento da intensidade do esforço, a temperatura talâmica ao longo do exercício, bem como no momento de sua interrupção, não foi diferente entre as intensidades testadas. Além disso, os ratos interromperam o exercício com temperatura talâmica abaixo de 40°C nas duas intensidades testadas, sendo que a partir do vigésimo oitavo minuto de exercício a temperatura talâmica não foi diferente da observada na IVE. Portanto, é possível afirmar que o aumento da temperatura cerebral não foi a causa da redução do desempenho na maior intensidade de exercício. A diminuição do tempo de exercício em função do aumento da velocidade da esteira encontrada em nosso trabalho corrobora os dados de [Rodrigues et al \(2003\)](#), que mediram o desempenho físico de ratos submetidos a 2 intensidades de exercício (21 e 24 m/min) em 3 temperaturas ambientais (22; 28 e 35°C). Estes autores mostraram que a taxa de acúmulo de calor, uma variável dinâmica que considera a produção de calor metabólico em função do tempo de exercício, é a variável que melhor explica a redução do desempenho físico como consequência do aumento da temperatura interna. Por outro lado, [Fuller, Carter, Mitchell \(1998\)](#) sugerem a existência de uma temperatura interna crítica próxima a 40°C, que quando alcançada, o exercício é interrompido. Tal sugestão foi baseada em experimentos nos quais ratos submetidos ao exercício contínuo alcançam valores de temperatura hipotalâmica e abdominal próximos a 40°C no momento da interrupção do esforço, independente dos valores pré-exercício. Contrapondo essas idéias, no presente estudo, a taxa de elevação da temperatura talâmica ou uma temperatura talâmica crítica não determinaram o desempenho, uma vez que, o aumento da temperatura talâmica induzida pelo exercício a 24 m/min não foi diferente do exercício a 21 m/min. Embora durante o exercício no calor a taxa de acúmulo de calor seja um fator preponderante na determinação da interrupção do esforço, uma vez que o aumento da temperatura cerebral é um risco para a integridade do organismo, em ambiente termoneutro a integração de outros fatores como os ajustes cardiovasculares, ventilatórios e o equilíbrio acido-básico podem determinar o

desempenho. [Guimarães \(2007\)](#) demonstrou que a temperatura interna de ratos não se alterou durante o exercício realizado na esteira (20 m/min e 5% de inclinação, aproximadamente 67% do VO_{2max}) até a IVE em temperatura ambiente de 12°C. Entretanto, mesmo na ausência da hipertermia induzida pelo exercício, a injeção de metilatropina no núcleo ventromedial hipotalâmico reduziu o tempo de exercício quando comparado à injeção de salina. Portanto, é provável que fatores além da taxa de acúmulo de calor e o alcance de uma temperatura cerebral crítica contribuíram para a interrupção do esforço nas duas intensidades de exercício que foram estudadas em nosso experimento.

Um resultado inesperado no presente estudo foi a alteração semelhante da temperatura talâmica com o aumento da velocidade de corrida de 21 para 24 m/min (FIGURA 9), uma vez que a temperatura interna aumenta em função da intensidade do exercício. Os estudos que demonstraram essa correlação, mediram a temperatura retal ([TANAKA, YANASE, NAKAYAMA, 1988](#)) e a temperatura abdominal ([RODRIGUES *et al*, 2003](#)) como índice de temperatura interna, enquanto no presente estudo foi realizada a medida da temperatura talâmica. A medida das temperaturas retal, colônica e abdominal é utilizada como índice de temperatura interna e de fato, foi observada correlação entre a temperatura a colônica e a temperatura do sangue arterial ([SHELLOCK, RUBIN, 1984](#)), que representa a temperatura média dos tecidos corporais ([BLIGH, 1979](#)). A temperatura abdominal é determinada pelo metabolismo dos tecidos corporais, enquanto a temperatura cerebral é determinada principalmente pela atividade metabólica local ([KIYATKIN, BROWN, WISE, 2002](#); [NYBO, SECHER, NIELSEN, 2002](#); [SUKSTANSKII, YABLONSKIY, 2006](#)). O metabolismo cerebral é elevado em relação ao resto do corpo e a temperatura cerebral é regulada em maiores valores que a temperatura do sangue arterial. ([KIYATKIN, BROWN, WISE, 2002](#); [CAPUTA, 2004](#)). Embora até o momento nenhum estudo tenha medido temperatura talâmica durante o exercício em diferentes intensidades, [Brummer *et al* \(2011\)](#) demonstraram que a ativação do córtex motor primário, região essencialmente motora, aumenta com o aumento na intensidade do exercício enquanto não foram observadas alterações em outras regiões corticais que não estão diretamente relacionadas ao controle motor. Embora a principal função tálamo esteja relacionada com o controle motor, é importante ressaltar que este núcleo integra aferências motoras e sensoriais, sendo provável

que no início do exercício tanto circuitos motores quanto circuitos sensoriais tenham contribuído para a elevação da temperatura talâmica no presente estudo, como sugere o estudo de [Holschneider, Maarek \(2008\)](#). Portanto, é possível que o aumento na atividade de circuitos motores e sensoriais talâmicos induzidos pelo exercício físico não foi diferente entre as intensidades testadas no estudo.

Nossos resultados mostram que a temperatura talâmica aumenta em paralelo com a temperatura abdominal durante o exercício e que estas não são diferentes na IVE (FIGURA 12 A). A menor variação da temperatura talâmica em relação a abdominal durante o exercício físico (FIGURA 12 B) não sugere maior sensibilidade do tecido neural em relação ao resto do corpo e pode ser atribuída a diferença entre estas temperaturas no início do exercício (FIGURA 12 A), visto que, em condições basais, a temperatura cerebral é maior que a temperatura do sangue arterial em ratos acordados ([KIYATKIN et al, 2002](#)).

[Caputa, Feistkorn, Jessen \(1986\)](#) manipularam separadamente as temperaturas do cérebro e do tronco e observaram redução do desempenho de cabras com a elevação da temperatura cerebral, independente da temperatura em outra região do corpo. Isto sugere maior sensibilidade do tecido neural à elevação da temperatura interna e conseqüentemente maior importância da temperatura cerebral na determinação do desempenho. Posteriormente, [Caputa, Kamari, Wachulec \(1991\)](#) e [Hasegawa et al \(2008\)](#) também encontraram efeito neuroprotetor em ratos ao observar menor aumento da temperatura cerebral quando comparada à temperatura retal, durante exercício no calor. Por outro lado, [Fuller, Carter, Mitchell \(1998\)](#) e [WALTERS et al \(2000\)](#) não observaram diferença entre as temperaturas cerebral e do tronco de ratos no final do exercício realizado em ambiente quente. Em um estudo no qual foram medidas as temperaturas em duas regiões cerebrais (córtex e hipotálamo), juntamente com a temperatura retal de ratos durante o exercício físico no calor, não foi observada diferença entre a temperatura retal e hipolâmica. Por outro lado, a temperatura cortical permaneceu aproximadamente 1°C abaixo da temperatura de outras regiões, durante todo o exercício, resultado atribuído a maior dissipação de calor da região cortical por radiação ([WALTERS et al, 2000](#)). Estes dados demonstram que não há um consenso na literatura em relação a um efeito neuroprotetor em ratos determinar o desempenho físico e que em função da

localização de uma estrutura cerebral, ela pode se manter mais fria que a temperatura do tronco durante o exercício. Embora nossos resultados não demonstrem uma maior sensibilidade do tecido neural em função do aumento de temperatura induzido pelo exercício físico, não descartamos a existência do resfriamento cerebral seletivo (RCS) atuar durante o exercício físico e proteger o cérebro do dano térmico, diante de evidências que demonstram a maior sensibilidade do tecido neural em relação a outras partes do corpo (CAPUTA, FEISTKORN, JESSEN, 1986; CAPUTA, KAMARI, WACHULEC, 1991) e os danos cerebrais causados pela elevação da temperatura interna (KIYATKIN, SHARMA, 2011). É importante ressaltar que já foram demonstrados vários mecanismos de resfriamento cerebral seletivo em pássaros e em uma variedade de mamíferos indicando ser esta uma capacidade comum em homeotérmicos e que a eficácia do resfriamento cerebral seletivo parece ser ajustada a necessidade biológica de cada espécie, mas de maneira geral, é regulada pelo nível de hipertermia (CAPUTA, 2004).

4.2 Estimulação colinérgica central, temperatura talâmica e desempenho físico

Nossos dados mostraram que a injeção ICV de fisostigmina atenua tanto a elevação da temperatura talâmica como o aumento da temperatura abdominal durante o exercício físico (FIGURA 5A). A participação do sistema colinérgico central na termorregulação foi inicialmente demonstrada por Lin *et al* (1979) que injetaram metacolina (agonista colinérgico) em ratos acordados e observaram hipotermia, atribuída a redução da taxa metabólica e ao aumento da dissipação cutânea de calor. Lin, Wang, Chandra (1980) verificaram que os efeitos hipotérmicos de agonistas colinérgicos (acetilcolina, pilocarpina e fisostigmina) em ratos sob condições metabólicas basais, foram bloqueados pela atropina (antagonista competitivo que se liga aos receptores muscarínicos), sugerindo que os efeitos termorregulatórios da estimulação colinérgica central são mediados pela ativação dos receptores muscarínicos. Em seguida, foi demonstrado por nosso grupo de pesquisa que a injeção ICV de atropina reduz a capacidade máxima de realizar exercício (LIMA, COIMBRA, MARUBAYASHI, 1998; LIMA *et al*, 2001). A partir

destes dados, surgiu a hipótese que a injeção ICV de fisostigmina poderia aumentar o desempenho, por meio do aumento na dissipação de calor e consequente atenuação do aumento da temperatura interna induzida pelo exercício. Entretanto, [Rodrigues et al \(2004\)](#) não observaram alteração no desempenho, embora a injeção central de fisostigmina tenha atenuado o aumento da temperatura colônica induzido pelo exercício. Visto que a literatura demonstrava a participação do sistema colinérgico no controle neural da função cardiovascular, [Pires et al \(2007\)](#) investigaram os ajustes termorregulatórios e cardiovasculares induzidos pela estimulação colinérgica central durante o exercício físico. Estes autores mostraram que a injeção central de fisostigmina aumenta a dissipação de calor durante o exercício. Este efeito foi precedido por meio do aumento da pressão arterial média, sugerindo que o aumento da dissipação de calor é decorrente da estimulação dos barorreceptores arteriais, os quais induzem bradicardia reflexa e vasodilatação periférica. Para confirmar essa hipótese, [Pires et al \(2010\)](#) mediram a pressão arterial e a temperatura da cauda em ratos submetidos à remoção cirúrgica dos barorreceptores aórticos e carotídeos (desnervação sino-aórtica) durante o exercício. Como esperado, a injeção central de fisostigmina não aumentou a dissipação de calor nos ratos desnervados, embora tenha induzido aumento exagerado da pressão arterial. A partir desses dados foi concluído que o aumento da dissipação de calor induzido pela estimulação colinérgica central é consequência de aumento da pressão arterial média, o qual estimula os barorreceptores arteriais. Portanto, a dissipação cutânea de calor é mediada por reflexo não termorregulatório. Estes autores mostraram também que a atenuação da elevação da temperatura interna (que poderia aumentar o tempo de exercício) é contraposta pelo aumento exacerbado da pressão arterial (que aumenta a percepção do esforço), como consequência, o desempenho não é alterado com a injeção ICV de fisostigmina.

Inicialmente esperávamos que o efeito da injeção central de fisostigmina sobre a temperatura talâmica fosse diferente quando comparado ao efeito sobre a temperatura abdominal, visto que os mecanismos que modulam o leito vascular cerebral são diferentes de outros leitos vasculares, como o cutâneo ([LEVY, 2004](#); [OGOHO, AINSLIE, 2009](#)). Entretanto, a injeção ICV de fisostigmina reduziu a área sob a curva (ASC) da temperatura abdominal e da temperatura talâmica na mesma proporção (43%, FIGURA 13). O leito vascular periférico é regulado por mecanismos

locais e neurais. Dentre os mecanismos neurais, o sistema nervoso autonômico modula a frequência cardíaca, a força de contração do miocárdio e o grau de constrição das artérias. Já o leito vascular cerebral, embora seja inervado por fibras simpáticas, é modulado predominantemente por auto-regulação e pela pressão parcial de dióxido de carbono (PaCO_2) (OGOH, AINSLIE, 2009). Em humanos, durante o exercício o fluxo sanguíneo cerebral aumenta linearmente em função da intensidade do exercício até 60% do $\text{VO}_{2\text{máx}}$, a partir desta intensidade o fluxo sanguíneo cerebral reduz. Estes achados são atribuídos, pelo menos em parte, a redução da PaCO_2 induzida por hiperventilação (SATO *et al*, 2011). Portanto, nós formulamos a hipótese de que a regulação do fluxo sanguíneo cerebral durante o exercício ocorreria por meio de mecanismos distintos da circulação periférica, e conseqüentemente, a injeção central de fisostigmina provocaria alterações diferentes na temperatura cerebral quando comparada à temperatura abdominal.

Como mencionado anteriormente, Pires *et al* (2010) mostraram que o maior fluxo sanguíneo na cauda é consequência de vasodilatação mediada pela estimulação dos barorreceptores, visto que, o aumento da temperatura da pele da cauda é precedido por aumento da pressão arterial e atenuação do aumento da frequência cardíaca. Como é provável que a atividade talâmica estivesse aumentada durante o exercício, principalmente pelo aumento na atividade dos circuitos motores GTC e CbTC (HOLSCHNEIDER *et al*, 2007), a atenuação da elevação da temperatura talâmica pode refletir o aumento do fluxo sanguíneo nesta região, induzido pela estimulação colinérgica central. Nessa condição é possível que o calor do tecido cerebral seja removido à medida que o sangue é resfriado pela vasodilatação da cauda, como sugerido pela variação simultânea das temperaturas após a injeção ICV de fisostigmina (FIGURA 12D).

É possível que os efeitos da estimulação colinérgica central sobre a temperatura cerebral também sejam mediados pelo barorreflexo arterial, assim como na temperatura abdominal (PIRES *et al*, 2007; PIRES, 2008). Existem evidências anatômicas que mostram que o sistema nervoso autonômico (SNA) simpático inerva os vasos cerebrais e que a estimulação barorreflexa modula a atividade desses nervos (NAKAI, 1985; ISHITSUKA *et al*, 1986). Estes estudos demonstraram que regiões próximas do centro cardiovascular atuam como sítios de controle da

circulação sistêmica e cerebral. É bem descrito que fibras aferentes provenientes dos barorreceptores arteriais e cardiopulmonares ascendem através dos nervos vago, sinusal e depressor aórtico até a porção intermédia do núcleo do trato solitário (NTS). Para verificar a participação dos barorreceptores na regulação do fluxo sanguíneo cerebral, foi realizado um experimento no qual a porção intermédia do NTS de ratos foi eletricamente estimulada. Os animais foram previamente submetidos à cordotomia e vagotomia para eliminar qualquer contribuição do SNA periférico sobre respostas observadas. A estimulação elétrica do NTS aumentou o fluxo sanguíneo cerebral (NAKAI, 1985). Em outro modelo experimental no qual foram realizadas lesões no NTS, também foi demonstrado que esta região participa do controle do leito vascular cerebral (ISHITSUKA *et al*, 1986). Neste último estudo também foram analisados os efeitos das lesões no NTS sobre o fluxo sanguíneo cerebral na extensão do intervalo de autorregulação da pressão arterial sistêmica (90 – 140 mmHg), bem como sob pressão arterial elevada (170 mmHg) em ratos. O fluxo sanguíneo cerebral foi menor quando a pressão arterial sistêmica foi mantida em 90 mmHg e maior com pressão arterial mantida em 140 e 170 mmHg nos animais após a lesão do NTS. Estes resultados demonstram que vias neurais que se originam ou passam pelo NTS podem regular o fluxo sanguíneo cerebral no rato e que estes efeitos envolvem a autorregulação cérebro-vascular (ISHITSUKA *et al*, 1986). Além disso, Talman, Dragon, Ohta (1994) demonstraram que a interrupção das aferências barorreflexas, por meio da desnervação sino-aórtica, atenua o aumento do fluxo sanguíneo cerebral que ocorre quando a pressão arterial ultrapassa o limite superior da autorregulação cérebro-vascular. Estes autores especulam que a atividade barorreflexa pode contribuir para a dilatação vascular cerebral e conseqüente aumento do fluxo sanguíneo cerebral quando um nível crítico de pressão arterial é alcançado. Portanto, de acordo com achados de estudos prévios e com nossos dados mostrando que a injeção central de fisostigmina atenua de forma proporcional as temperaturas abdominal e cerebral, é possível que o barorreflexo regule tanto o fluxo sanguíneo sistêmico quanto o fluxo sanguíneo cerebral.

5 CONCLUSÃO

O presente estudo mostrou que o aumento da temperatura talâmica induzido pelo exercício físico não foi diferente entre as intensidades testadas e que o aumento da dissipação cutânea de calor induzido pela estimulação colinérgica central atenua proporcionalmente a elevação da temperatura talâmica e abdominal durante o exercício físico.

REFERÊNCIAS

BLIGH, J. The central neurology of mammalian thermoregulation. *Neuroscience*, v. 4, p. 1213-1236, 1979.

BRUMMER, V. *et al.* Brain cortical activity is influenced by exercise mode and intensity. *Med. Sci. Sports Exerc.*, v. 43, p. 1863-1872, 2011.

CAPUTA, M. Selective brain cooling: a multiple regulatory mechanism. *Journal of Thermal Biology*, v. 29, p. 691-702, 2004.

CAPUTA, M.; FEISTKORN, G.; JESSEN, C. Effects of brain and trunk temperatures on exercise performance in goats. *Pflugers arch*, v. 406, p. 184-189, 1986.

CAPUTA, M.; KAMARI, A.; WACHULEC, M. Selective brain cooling in rats resting in heat and during exercise. *J. Therm. Biol.*, v. 16, f. 1, p. 19-24, 1991.

CONSENZA, R. M. Fundamentos de neuroanatomia. 3 ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 2005. 147 p.

DALGALARRONDO, P. Evolução do cérebro: sistema nervoso, psicologia e psicopatologia sob a perspectiva evolucionista. Artmed, 2011. 462 p.

FULLER, A.; CARTER, R. N.; MITCHELL, D. Brain and abdominal temperatures at fatigue in rats exercising in the heat. *J Appl Physiol*, v. 84, f. 3, p. 877-883, 1998.

GORE, R. The rise of mammals: adapting, evolving, surviving. *Natl Geogr.*, v. 203, f. 4, p. 2-37, 2003.

GOTOH, M.; SMYTHE, G. A. Effects of intracerebroventricularly administered neostigmine on sympathetic neural activities of peripheral tissues in rats. *Brain Research*, v. 548, p. 326-328, 1991.

GUILLERY, R. W. Anatomical evidence concerning the role of the thalamus in corticocortical communication: a brief review. *J. Anat.*, v. 187, p. 583-592, 1995.

GUILLERY, R. W.; SHERMAN, S. M. The thalamus as a monitor of motor outputs. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.*, v. 357, p. 1809-1821, 2002.

GUIMARÃES, J. B. *A fadiga no exercício físico é modulada pela neurotransmissão colinérgica nos núcleos ventromediais hipotalâmicos em ambiente frio*. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Educação Física da Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Educação Física / Área de concentração: Treinamento Esportivo, 2007.

HASEGAWA, H. *et al.* Influence of brain catecholamines on the development of fatigue in exercising rats in the heat. *J. Physiol.*, v. 586, f. 1, p. 141-149, 2008.

HERRERO, M. T.; BARCIA, C.; NAVARRO, J. M. Functional anatomy of thalamus and basal ganglia. *Child's Nerv. Syst.*, v. 18, p. 386-404, 2002.

HOLSCHNEIDER, D. P.; MAAREK, J. M. I. Brain maps on the go: functional imaging during motor challenge in animals. *Methods*, v. 45, p. 255-261, 2008.

HOLSCHNEIDER, D. P. *et al.* Functional brain mapping in freely moving rats during treadmill walking. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, v. 23, p. 925-932, 2003.

HOLSCHNEIDER, D. P. *et al.* Reorganization of functional brain maps after exercise training: importance of cerebellar-thalamic-cortical pathway. *Brain Research*, v. 1184, p. 96-107, 2007.

ISHITSUKA, T. *et al.* Lesions of nucleus tractus solitarii globally impair cerebrovascular autoregulation. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, v. 251, p. 269-281. 1986.

KATZUNG, B. G.; MASTERS, S.; TREVER, A. *Basic and Clinical Pharmacology*. 11 ed. McGraw-Hill, 2009. 1056 p.

KIYATKIN, E. A.; BROWN, P. L.; WISE, R. A. Brain temperature fluctuation: a reflection of functional neural activation. *European Journal of Neuroscience*, v. 16, p. 164-168, 2002.

KIYATKIN, E. A.; SHARMA, H. S. Expression of heat shock protein (HSP 72 kDa) during acute methamphetamine intoxication depends on brain hyperthermia: neurotoxicity or neuroprotection? *J. Neural Transm.*, v. 118, p. 47-60, 2011.

LEVY, M. N. A circulação periférica e seu controle. In: BERNE, R. M. *et al.* *Fisiologia*. 5 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004. c. 21, p. 399-413.

LEWIS, M. M. *et al.* Task specific influences of parkinson's disease on the striato-thalamo-cortical and cerebello-thalamo-cortical motor circuitries. *Neuroscience*, v. 147, f. 1, p. 224-235, 2007.

LIMA, N. R. V. *Efeitos da metilatropina nos núcleos ventromediais do hipotálamo sobre as alterações metabólicas e cardiovasculares e no tempo total de exercício em ratos não treinados.* Tese de doutorado em Fisiologia apresentada ao Departamento de Fisiologia e Biofísica do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, 2000.

LIMA, N. R. V.; COIMBRA, C. C.; MARUBAYASHI, U. Effect of intracerebroventricular injection of atropine on metabolic responses during exercise in untrained rats. *Physiology & Behavior*, v. 64, f. 1, p. 69-74, 1998.

LIMA, N. R. V. *et al.* Prolactin release during exercise in normal and adrenalectomized untrained rats submitted to central cholinergic blockade with atropine. *Hormones and Behavior*, v. 40, p. 526-532, 2001.

LIN, M. T. *et al.* The role of the cholinergic systems in the central control of thermoregulation in rats. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, v. 57, f. 11, p. 1205-1212, 1979.

LIN, M. T.; WANG, H. C.; CHANDRA, A. The effects on thermoregulation of intracerebroventricular injections of acetylcholine, pilocarpine, physostigmine, atropine and hemicholinium in the rat. *Neuropharmacology*, v. 19, p. 561-565, 1980.

NAGASHIMA K. *et al.* Neuronal circuitries involved in thermoregulation. *Auton Neurosc.*, v. 85, p. 18-25, 2000.

NAKAI, M. An increase in cerebral blood flow elicited by electrical stimulation of the solitary nucleus in rats with cervical cordotomy and vagotomy. *Jpn. J. Physiol.*, v. 35, p. 57-70, 1985.

NYBO, L.; SECHER, N. H.; NIELSEN, B. Inadequate heat release from the human brain during prolonged exercise with hyperthermia. *Journal of Physiology*, v. 545, f. 2, p. 697-704, 2002.

O'LEARY, D. S.; JOHNSON, J. M.; TAYLOR, W. F. Mode of neural control mediating rat tail vasodilation during heating. *J Appl Physiol*, v. 59, p. 1533-1538, 1985.

OGOHO, S.; AINSLIE, P. N. Cerebral blood flow during exercise: mechanisms of regulation. *J. Appl. Physiol.*, v. 107, p. 1370-1380, 2009.

PAXINOS, G.; WATSON, C. The rat brain in stereotaxic coordinates. 6. Ed. Elsevier Science & Technology Books, 2007.

PIRES, W. Durante o exercício físico os ajustes termorregulatórios induzidos pela estimulação colinérgica central são mediados pelo barorreflexo arterial. *Dissertação de Mestrado em Treinamento Esportivo apresentada ao Departamento de Educação Física da Universidade Federal de Minas Gerais*, 2008.

PIRES, W. *et al.* Intracerebroventricular physostigmine enhances blood pressure and heat loss in running rats. *Journal of Physiology and Pharmacology*, v. 58, f. 1, p. 3-17, 2007.

PIRES, W. *et al.* Sinoaortic denervation prevents enhanced heat loss induced by central cholinergic stimulation during physical exercise. *Brain Research*, v. 1366, p. 120-128, 2010.

RODRIGUES, A. G. *et al.* Intracerebroventricular physostigmine facilitates heat loss mechanisms in running rats. *J Appl Physiol*, v. 97, p. 333-338, 2004.

RODRIGUES, A. G. *et al.* Evidence that exercise-induced heat storage is dependent on adrenomedullary secretion. *Physiology & Behavior*, v. 94, p. 463-467, 2008.

RODRIGUES, L. O. C. *et al.* Heat storage rate and acute fatigue in rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, v. 36, p. 131-135, 2003.

ROMANOVSKY, A. A. Thermoregulation: some concepts have changed. Functional architecture of the thermoregulatory system. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, v. 292, p. 37-46, 2007.

ROWEL, L.B.; SHEPHERD J.T. Exercise: Regulation and Integration of Multiple Systems. New York. Oxford University Press, 1996. 1210 p.

SATO, K. *et al.* The distribution of blood flow in the carotid and vertebral arteries during dynamics exercise in humans. *J Physiol.*, v. 589, f. 11, p. 2847-2856, 2011.

SHELLOCK, F. G.; RUBIN, S. A. Temperature regulation during treadmill exercise in the rat. *J. Appl. Physiol.*, v. 57, f. 6, p. 1872-1877, 1984.

SONNE, B.; GALBO, H. Simultaneous determinations of metabolic and hormonal responses, heart rate, temperature and oxygen uptake in running rats. *Acta Physiol. Scand.*, v. 109, p. 201-209, 1980.

SUKSTANSKII, A. L.; YABLONSKIY, D. A. Theoretical model of temperature regulation in the brain during changes in functional activity. *PNAS*, v. 103, f. 32, p. 12144-12149, 2006.

TALMAN, W. T.; DRAGON, D. N.; OHTA, H. Baroreflexes influence autoregulation of cerebral blood flow during hypertension. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, v. 267, p. 1183-1189, 1994.

TANAKA, H.; YANASE, M.; NAKAYAMA, T. Body temperature regulation in rats during exercise of various intensities at different ambient temperatures. *Japanese Journal of Physiology*, v. 38, p. 167-177, 1988.

TYLL, S.; BUDINGER, E.; NOESSELT, T. Thalamic influences on multisensory integration. *Communicative & Integrative Biology*, v. 4, f. 4, p. 378-381, 2011.

WALTERS, T. J. *et al.* Regional brain heating during microwave exposure (2.06 GHz), warm-water immersion, environmental heating and exercise. *Bioelectromagnetics*, v. 19, p. 341-353, 1998.

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

WANNER, S. P. *O exercício físico induz ajustes termorregulatórios e cardiovasculares que são mediados pela neurotransmissão colinérgica nos núcleos ventromediais hipotalâmicos.* Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Educação Física da Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Educação Física / Área de concentração: Treinamento esportivo, 2006.

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

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