

O exercício físico induz ajustes termorregulatórios e cardiovasculares que são mediados pela neurotransmissão colinérgica dos núcleos ventromediais hipotalâmicos

Samuel Penna Wanner

25 de setembro de 2006

Samuel Penna Wanner

**O exercício físico induz ajustes
termorregulatórios e cardiovasculares que são
mediados pela neurotransmissão colinérgica
dos 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

Orientador: *Prof. Dr. Nilo Resende Viana Lima*

Co-orientador: *Prof. Dr. Cândido Celso Coimbra*

Belo Horizonte

Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional - UFMG

28 de Abril de 2006

SAMUEL PENNA WANNER

O EXERCÍCIO FÍSICO INDUZ AJUSTES TERMORREGULATÓRIOS E
CARDIOVASCULARES QUE SÃO MEDIADOS PELA NEUROTRANSMISSÃO
COLINÉRGICA DOS NÚCLEOS VENTROMEDIAS HIPOTALÂMICOS

Dissertação de mestrado defendida e aprovada, no dia 28 de Abril de 2006, pela banca examinadora constituída pelos seguintes professores:

Prof. Dr. Antônio José Natali - EEF / UFV

Profa. Dra. Andréa Siqueira Haibara - ICB / UFMG

Prof. Dr. Nilo Resende Viana Lima - EEFFTO / UFMG
(Orientador)

Programa de Pós-Graduação em Educação Física
Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional / UFMG
Belo Horizonte, 28 de Abril de 2006

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Fisiologia do Exercício (LAFISE), da Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional e no Laboratório de Endocrinologia e Metabolismo, do Instituto de Ciências Biológicas, da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Foram concedidos auxílios financeiros pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), da Coordenação de Pessoal de Nível Superior (CAPES), da Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), da Pró-Reitoria de Pesquisa da UFMG (PRPq) e do Ministério da Educação (MEC).

AGRADECIMENTOS

À população brasileira por financiar mais um período da minha formação profissional e científica. Em especial, agradeço àquelas pessoas que dedicam seus esforços pela qualidade do ensino e da pesquisa realizados nas instituições federais. Sinto-me feliz por ter concluído mais um período da minha formação em uma instituição pública.

Aos meus pais, Pedro e Célia, a minha irmã, Ana Luiza, e aos meus familiares por proporcionarem um lar seguro, confortável e com muito carinho e amor. Agradeço ainda pelo incentivo para que eu continuasse desenvolvendo os meus experimentos.

Ao Prof. Dr. Nilo Resende Viana Lima que começou a me orientar em março de 2001 e que foi determinante durante a minha formação científica. Agradeço pela oportunidade de desenvolver pesquisa com animais e pela presença nos momentos em que surgiram dúvidas ou problemas referentes aos experimentos. Obrigado também por ter instigado sempre a dúvida e por ter mostrado que o conhecimento científico não é uma certeza.

Ao Prof. Dr. Cândido Celso Coimbra pela orientação nas análises e discussões dos resultados. Agradeço também o acesso irrestrito à infra-estrutura do Laboratório de Endocrinologia e Metabolismo do ICB, a disponibilidade para esclarecer as minhas dúvidas e o estímulo para buscar objetivos mais altos.

À Profa. Dra. Umeko Marubayshi pela contribuição no gosto pela fisiologia, pelos ensinamentos (paciência e perseverança) e pela convivência sempre agradável e leve.

À Profa. Dra. Danusa Dias Soares pela energia e renovação que a sua volta trouxe ao nosso laboratório. Agradeço também pelo exemplo de dedicação e pela amizade.

Ao Prof. Dr. Emerson Silami Garcia que foi fundamental para a montagem da estrutura física do nosso laboratório e que me ensinou a perceber alguns aspectos que estão envolvidos no processo de construção do conhecimento.

Ao Prof. Dr. Luiz Oswaldo Carneiro Rodrigues que nos auxiliou na análise e discussão

dos dados. Agradeço também pela oportunidade da iniciação científica e pelos ensinamentos que foram marcados com ceticismo e admiração.

Ao André Pimenta de Faria, do Laboratório de Endocrinologia e Metabolismo do ICB, pela amizade, pela assistência técnica e pela disponibilidade para resolver as minhas dúvidas.

À técnica Solange, do Laboratório de Endocrinologia e Metabolismo do ICB, por ter me ensinado a fazer os cortes dos tecidos cerebrais no criostato.

À Maria Aparecida Vasconcelos Faria (Cida), técnica do Laboratório de Fisiologia do Exercício, pela preocupação com a qualidade e a organização dos nossos experimentos.

À Profa. Dra. Maria das Graças Carvalho, do Departamento de Análises Clínicas, pelo incentivo e pelo empréstimo do microscópio ótico.

Aos funcionários do CEBIO / ICB pelo cuidado com os animais e pela disponibilidade para solucionar as nossas necessidades.

Aos colegas do mestrado Alessandro Bruzzi, Cynthia Fantini, Leopoldo Paolucci e Mariana Calábria Lopes pela convivência durante as disciplinas e pela amizade.

Aos companheiros do Laboratório de Endocrinologia e Metabolismo: Ana Cristina Rodrigues Lacerda, Ana Luiza Turchetti Maia, Cláudio Heitor Balthazar, Gregório Elias Nunes Viana, Laura Hora Rios Leite, Simonton de Andrade Silveira, Virgínia Mara Pereira pelo auxílio no desenvolvimento do trabalho e pela amizade.

Aos companheiros do Laboratório de Fisiologia do Exercício: Aline Regina Gomes, Alison Eduardo Pereira Silva, Clayton Márcio Santos, Cristiano Lino Monteiro de Barros, Flávio de Castro Magalhães, Francisco Teixeira Coelho, Michele Macedo Moraes, Kenya Paula Moreira Oliveira, Lucas de Ávila Mortimer, Mariella Guimarães Lacerda, Milene Rodrigues Malheiros Lima, Reinaldo Telles Paulinelli Jr., Roberta Maria Miranda, Sandra Carvalho Machado. Obrigado pela convivência diária e por amenizarem os meus momentos de frustração. Agradeço

ainda pela amizade e companhia nos encontros e festas fora do ambiente de trabalho.

A minha tia e madrinha Júnia Maria da Fonseca Penna pelo carinho e motivação. Agradeço também pelo trabalho que deu origem à arte gráfica da capa da dissertação.

Ao amigos Christiano Antônio Machado Moreira e Thales Nicolau Prímola Gomes pela amizade e pelo auxílio em questões pessoais e relacionadas ao mestrado.

A Letícia Maria de Souza Cordeiro pelo auxílio nas atividades do laboratório, pelo carinho e pela amizade.

Ao Washington Pires que me ensinou os procedimentos referentes às colheitas das variáveis cardiovasculares (cirurgia, manuseio dos equipamentos e do software de aquisição dos dados) e pela paciência para me ajudar até que eu pudesse superar as minhas dificuldades. Obrigado também pela amizade.

À Roberta Borges La Guardia (Bebé), pela longa amizade compartilhada em diferentes ambientes (diretório acadêmico, laboratório, forró, botecos, festas e movimento balanço). Agradeço ainda pelo auxílio no dia-a-dia do laboratório e nos experimentos referentes às variáveis cardiovasculares.

À Juliana Bohnen Guimarães que compartilhou muitos momentos importantes, felizes e divertidos nesses últimos cinco anos. Obrigado por ter realizado esse projeto junto comigo, pela motivação para enfrentar os desafios e por não ter faltado nos momentos de dificuldade. Obrigado também pelo amor e sonhos que compartilhamos.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização dessa dissertação.

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi avaliar a participação dos receptores colinérgicos muscarínicos dos núcleos ventromediais hipotalâmicos (VMH) na dissipação de calor, nos ajustes cardiovasculares e na fadiga durante o exercício em esteira rolante ($24 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$, 5% inclinação). Os ratos foram submetidos a duas condições experimentais separadas por um intervalo de pelo menos dois dias. A temperatura da pele da cauda, a temperatura interna e a pressão arterial foram medidas após a injeção de 200 ηL de solução de metilatropina $2,5 \times 10^{-2} \text{ M}$ (Atr) ou NaCl 0,15 M (Sal) nos VMH. A injeção de Atr nos VMH amplificou os aumentos da temperatura interna induzidos pelo exercício e causou um atraso do aumento da temperatura da cauda. O maior acúmulo de calor necessário para desencadear os mecanismos de dissipação de calor observado nos ratos injetados com Atr nos VMH pode ter sido responsável pela redução de 37% no desempenho dos animais ($21,0 \pm 2,9 \text{ min}$ Atr vs. $33,5 \pm 3,4 \text{ min}$ Sal; $n = 8$; $p \leq 0,001$). O bloqueio colinérgico dos VMH também antecipou os ajustes da pressão arterial (valor máximo da pressão arterial média: $132,6 \pm 3,9 \text{ mmHg}$ aos 3 min Atr vs. $125,2 \pm 4,1 \text{ mmHg}$ aos 9 min Sal; $n = 7$), os quais foram relacionados ao percentual do tempo total de exercício. Nós concluímos que os receptores colinérgicos muscarínicos nos VMH modulam a atividade simpática e a dissipação de calor durante o exercício físico. Além disso, os ajustes induzidos pela neurotransmissão colinérgica intra-ventromedial podem determinar o tempo de exercício até a fadiga.

Palavras-chaves: exercício, metilatropina, ratos, termorregulação

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the participation of cholinergic muscarinic receptors in the ventromedial hypothalamic nuclei (VMH) on heat balance, cardiovascular adjustments and central fatigue during treadmill exercise (24 m.min⁻¹, 5% inclination). Rats were submitted to two experimental situations separated by an interval of at least two days. Tail skin temperature, core body temperature (T_b) and arterial pressure were measured after the injection of 200 μ L of $2,5 \times 10^{-2}$ M methylatropine (Atr) or 0.15 M NaCl solution (Sal) into the VMH. Atr injection into the VMH amplified the exercise-induced increase in T_b and resulted in a delay in the rise of skin temperature. The increased heat storage needed to trigger the heat loss mechanisms observed in VMH Atr-treated rats may be responsible for the 37% decrease in the performance of these animals (21.0 ± 2.9 min Atr vs. 33.5 ± 3.4 min Sal; $n = 8$; $p \leq 0.001$). Cholinergic blockade of VMH has also accelerated the blood pressure adjustments (mean arterial pressure maximal value: 132.6 ± 3.9 mmHg at 3 min Atr vs. 125.2 ± 4.1 mmHg at 9 min Sal; $n = 7$), which were related to the percentage of total exercise time. We conclude that cholinergic muscarinic receptors in the VMH modulate sympathetic activation and facilitate heat loss during exercise. Furthermore, these adjustments induced by intra-ventromedial cholinergic neurotransmission determine exercise time until fatigue.

Keywords: exercise, methylatropine, rats, thermoregulation

Sumário

1	Introdução	11
1.1	Exercício Físico e Fadiga Aguda	11
1.2	Participação dos receptores colinérgicos centrais na manutenção da homeostase	18
1.3	Núcleos ventromediais hipotalâmicos (VMH)	21
2	Objetivos	30
3	Material e métodos	31
3.1	Cuidados éticos	31
3.2	Animais	31
3.3	Delineamento experimental	31
3.4	Tratamento dos animais	33
3.4.1	Seleção dos animais	33
3.4.2	Implante de sensor de temperatura na cavidade peritoneal e de cânulas crônicas nos núcleos ventromediais hipotalâmicos	33
3.4.3	Familiarização ao exercício na esteira rolante	34
3.4.4	Implante de cateter na aorta para registro da pressão arterial	34
3.5	Injeções nos núcleos ventromediais hipotalâmicos	35
3.6	Variáveis medidas	36
3.6.1	Temperatura da pele da cauda	36
3.6.2	Temperatura intra-peritoneal	36
3.6.3	Pressão arterial pulsátil	37
3.6.4	Tempo total de exercício	37
3.7	Variáveis de controle	37
3.7.1	Peso dos animais	37

3.7.2	Temperatura ambiente	37
3.7.3	Temperatura no interior da esteira	38
3.8	Variáveis calculadas	38
3.8.1	Índice de dissipação de calor (IDC)	38
3.8.2	Calor acumulado e Taxa de acúmulo de calor	38
3.9	Sacrifício e perfusão dos animais	39
3.10	Verificação da posição das cânulas	39
3.11	Análise estatística	40
4	Resultados	42
4.1	Localização das cânulas crônicas - Primeiro grupo	42
4.2	Tempo total de exercício	44
4.3	Temperaturas interna e da pele da cauda dos animais injetados com metilatro- pina nos VMH	47
4.4	Temperaturas interna e da pele da cauda dos animais injetados com metilatro- pina na região do Arc	50
4.5	Temperaturas interna e da pele da cauda dos animais injetados com metilatro- pina fora dos VMH e do Arc	52
4.6	Índice de dissipação de calor	54
4.7	Taxa de acúmulo de calor	56
4.8	Calor acumulado nos ratos até o momento da vasodilatação da pele da cauda durante o exercício	59
4.9	Variáveis de controle	61
4.10	Localização das cânulas crônicas - Segundo grupo de ratos	62
4.11	Tempo total de exercício	64
4.12	Pressão arterial média	66
4.13	Pressão arterial sistólica	68
4.14	Pressão arterial diastólica	70
4.15	Frequência cardíaca	72
4.16	Variáveis de controle	74
4.17	Efeitos da injeção de metilotropina no hipotálamo	75

5	Discussão	76
5.1	Núcleos ventromediais hipotalâmicos (VMH)	76
5.2	Região do núcleo arqueado	85
6	Conclusões	88

Capítulo 1

Introdução

1.1 Exercício Físico e Fadiga Aguda

O sistema nervoso central (SNC) é responsável pela decisão de iniciar e de interromper o exercício físico voluntário [30]. Assim que o indivíduo decide iniciar o exercício, os centros cerebrais de integração estimulam o sistema motor que transforma a informação neural em contração muscular. O sistema motor possui uma organização hierárquica, que envolve as áreas cerebrais superiores (área pré-motora, córtex motor e regiões corticais motoras suplementares), o hipotálamo, o tronco encefálico e a medula espinhal. Esta ocupa a posição mais inferior e é responsável pela organização das respostas mais automatizadas e estereotipadas a um determinado estímulo. O sistema motor também é organizado em paralelo, uma vez que cada área pode atuar independentemente na via final comum, a qual consiste nos motoneurônios que deixam a raiz ventral da medula espinhal e são direcionados para os músculos [29].

Quando o exercício é iniciado, simultaneamente e em paralelo à estimulação dos motoneurônios, o córtex motor aumenta a atividade simpática para diversos órgãos como fígado, coração e vasos sanguíneos da pele [87]. Essa estimulação autônoma associada à estimulação do sistema motor representam o comando central (pré-alimentação) e este mecanismo é ajustado conforme a necessidade de adaptação dos diversos sistemas orgânicos à intensidade do exercício.

Em função do aumento da taxa metabólica induzido pelo exercício, ocorrem alterações no meio interno as quais são informadas ao SNC por retro-alimentação. O SNC compara os valores fornecidos com referências e desencadeia respostas para a manutenção da homeostase. Dessa forma, por meio de ajustes de pré- e retro-alimentação o organismo se adapta a uma

condição com gasto energético acima dos valores basais.

Por muito tempo, aceitou-se que os ajustes ao exercício fossem influenciados exclusivamente por retro-alimentação. No entanto, esse mecanismo não é suficiente para explicar as respostas dos sistemas orgânicos à atividade física. Os ajustes cardiovasculares, por exemplo, ocorrem muito rapidamente com o início do exercício para serem consideradas resultado exclusivamente de alterações no meio interno [36]. Assim que o exercício é iniciado, o aumento da atividade simpática eleva as concentrações plasmáticas de noradrenalina e adrenalina e, essas catecolaminas, quando ligadas a receptores α -adrenérgicos, causam a constrição dos vasos [66, 110]. A vasoconstrição cutânea é um dos mecanismos que possibilita o organismo manter um retorno venoso adequado para o coração, possibilitando o aumento da pressão arterial média no início do exercício [36].

Estudos sobre a mobilização de substratos em ratos durante o exercício também forneceram evidências indiretas para a existência de um mecanismo neural de pré-alimentação. Vissing et al. [104] e Lima et al. [41] verificaram que o aumento da produção de glicose foi maior do que o aumento da sua utilização no início do exercício, resultando em um aumento da concentração plasmática desse substrato. Portanto, durante o exercício, o SNC controla a homeostase por meio de mecanismos de pré- e retro-alimentação e é possível que esses mecanismos também estejam envolvidos na decisão de interromper a atividade física. O SNC recebe estímulos provenientes de fontes diversas (coração, sistema respiratório, tendões, sangue que perfunde o cérebro), integra todos esses estímulos e determina o limite de duração e de intensidade do esforço modulando o comando motor, a fim de proteger a integridade do organismo [30].

A literatura apresenta cinco abordagens diferentes que têm sido utilizadas para explicar a fadiga [63]. São elas: 1- o modelo cardiovascular / anaeróbico; 2- o modelo do fornecimento / depleção de energia; 3- modelo de recrutamento muscular; 4- modelo biomecânico; 5- modelo psicológico / motivacional.

No entanto, alguns achados são incompatíveis com as predições de um ou mais desses modelos e isso sugere que os diferentes sistemas fisiológicos podem determinar o desempenho sob diferentes condições de exercício [63].

Rodrigues e Silami-Garcia [79] propuseram o modelo de limites integrados para explicar a fadiga aguda, a qual é entendida como um mecanismo de defesa, que integra múltiplos estímulos sensoriais, no qual diferentes fatores (disponibilidade de substratos, temperatura corporal, equilíbrio ácido-básico e hidroeletrolítico, fluxo sangüíneo, ventilação pulmonar,

atividade neural e outros) estão associados permanentemente à determinação da intensidade e duração suportáveis do exercício, em função do ambiente, para evitar qualquer falha na homeostase. Embora estejam integrados, os diferentes sistemas fisiológicos envolvidos podem preponderar de forma diferente de acordo com a intensidade relativa do exercício ($\%VO_{2max}$).

Esse modelo supera a compreensão de fadiga como uma falha, entendendo-a como um mecanismo de defesa que interrompe o esforço antes que seja atingido o limite fisiológico de qualquer um dos sistemas envolvidos com a atividade física, sem colocar em risco a homeostase do organismo [63, 79]. O modelo de limites integrados ainda necessita de estudos que o comprove.

A fadiga foi tradicionalmente definida como a incapacidade de manter uma determinada força ou potência, devido a uma falha ocorrida em qualquer momento da seqüência de eventos que desencadeiam a atividade muscular voluntária, desde o surgimento do estímulo nervoso no cérebro até a contração do músculo [13]. O modelo de falha parece satisfatório para explicar os casos de lesões ou patologias específicas, entretanto, em condições fisiológicas, existem evidências de que a fadiga ocorre antes que qualquer sistema fisiológico atinja o seu limite em uma determinada intensidade do exercício [63, 79]. Estudos realizados em condições de hipóxia hipobárica mostraram que quanto maior a altitude, menor a concentração de lactato medida durante o exercício máximo até a fadiga. Essa situação foi descrita como o paradoxo do lactato, uma vez que maiores concentrações de lactato seriam esperadas durante o exercício realizado em condições de hipóxia, uma situação que induz maior anaerobiose nos músculos esqueléticos e cardíaco [63]. O fato de os indivíduos interromperem o exercício com os seus músculos contraindo em condições aeróbicas pode refletir uma decisão do SNC para proteger o organismo, por exemplo, de uma isquemia miocárdica [30, 63].

Rodrigues et al. [77] e Pires et al. [70] obtiveram dados que caracterizam a fadiga como um mecanismo multifatorial. Os ratos injetados com fisostigmina no ventrículo cerebral lateral, mesmo com uma temperatura corporal inferior no momento da fadiga, realizaram o mesmo tempo total de exercício que os animais controles. Isso sugere que a menor temperatura interna não representou uma possibilidade para prolongar o exercício e, em função da potência imposta aos outros sistemas fisiológicos, a atividade física foi interrompida.

Existem abordagens centrais e periféricas para o estudo da fadiga. Os experimentos com animais vêm sendo utilizados para verificar a participação de neurotransmissores e de áreas cerebrais nos ajustes induzidos pelo exercício e nos mecanismos que levam à interrupção do mesmo. Newsholme et al. [60] sugeriram a hipótese da fadiga central, a qual está fundamen-

tada em evidências de que o aumento da concentração cerebral da serotonina está relacionado à diminuição do desempenho durante o exercício prolongado. Corroborando com essa hipótese, Soares et al. [89, 90] verificaram a redução do tempo total de exercício dos ratos injetados com triptofano, precursores da serotonina, no ventrículo cerebral lateral. Essa redução do desempenho foi acompanhada de um aumento no consumo de oxigênio e conseqüente redução da eficiência mecânica [89]. Foi observado também que a injeção de triptofano aumentou a taxa de acúmulo de calor, embora no momento da fadiga, as temperaturas internas dos ratos tratados com triptofano não tenham sido diferentes dos animais controles [90]. É possível que o maior acúmulo de calor corporal tenha sido causado, além de um maior gasto energético durante o exercício, por uma redução do calor dissipado pelo animal.

A participação de outros neurotransmissores, além da serotonina, nos ajustes induzidos pelo exercício e que possibilitam a manutenção da atividade física tem sido demonstrada. Estudos anteriores mostraram que o bloqueio dos receptores colinérgicos muscarínicos centrais reduziu o tempo total de exercício em ratos [40, 41, 42]. Além disso, já foi descrito que o bloqueio da neurotransmissão óxido nítrica antecipa a fadiga em exercício prolongado. [35, 34].

É importante ressaltar que os mecanismos envolvidos na fadiga são diferentes daqueles relacionados à exaustão. Esta representa uma condição em que o indivíduo é incapaz de interromper o exercício voluntariamente e, no caso de experimentos com roedores, é obtida por meio de protocolos de exercício mais intensos [10, 21, 48]. Isso pode induzir os animais a aumentarem o tempo de exercício e a atingirem um estado de hipertermia grave, o que pode resultar em morte. Hubbard et al. [21] observaram que quanto maior foi a temperatura retal no momento da exaustão, maior a mortalidade dos ratos, sendo que 66,7% dos ratos morreram quando interromperam o exercício com a temperatura corporal variando entre 41,1-42,5° C. A exaustão tem sido verificada pela ausência do reflexo de endireitamento, quando o animal é colocado em decúbito dorsal após o término do exercício [21].

Outra contribuição do modelo de limites integrados da fadiga proposto por Rodrigues e Silami-Garcia [79] é o reconhecimento que diferentes condições ambientais alteram as respostas fisiológicas a uma mesma intensidade de exercício. O estresse térmico pode antecipar a fadiga aguda durante o exercício em uma determinada intensidade ($\%VO_{2max}$). Estudos têm demonstrado a redução do tempo total de exercício realizado em ambiente quente em seres humanos [12] e em roedores [11, 48, 78, 86].

Dentre os possíveis mecanismos envolvidos na interrupção voluntária do exercício, as questões que relacionam a fadiga aos ajustes termorregulatórias têm recebido maior atenção dos pesquisadores do Laboratório de Fisiologia do Exercício da UFMG. O trabalho pioneiro foi realizado em 1986, quando verificou-se que o aumento da temperatura corporal, obtido passiva ou ativamente, não alterou as respostas neuro-motoras (tempo de reação óculo-manual) de seres humanos [80].

A temperatura corporal é resultado do balanço entre a dissipação e a produção de calor [108]. Os animais homeotermos geram seu próprio calor e tendem a possuir baixa condutividade térmica, devido à sua alta insulação tecidual [81]. A temperatura corporal é regulada em uma faixa estreita, independentemente de variações extremas da temperatura ambiente [15, 75]. As funções celulares ocorrem de forma ideal dentro de determinados limites de temperatura e por isso a vida só é possível quando a temperatura corporal se encontra entre o limite inferior, que provocaria o congelamento dos líquidos corporais, e o limite superior, que resultaria na desnaturação das enzimas [81].

Gordon [15] destaca que a termorregulação nos homeotermos é controlada por um sistema que possui quatro componentes principais: receptores térmicos (retro-alimentação), neurônios integrativos e de controle do SNC (comparador), mecanismos efetores responsáveis pela produção, conservação e dissipação de calor (controlador) e temperaturas interna e da pele (sistema passivamente controlado).

O hipotálamo funciona como um termostato, mantendo a temperatura central próxima ao ponto de ajuste de 37° C para os seres humanos, em condições normais de repouso. O termostato é sensível a variações na temperatura corporal, estando permanentemente comparando-as com a sua referência e, quando necessário, desencadeando respostas para a correção do erro [15, 75, 81]. O hipotálamo recebe informações aferentes sobre a temperatura corporal a partir de termorreceptores localizados na pele, nas vísceras e na medula espinhal, e também a partir de neurônios sensíveis à temperatura do sangue que perfunde a sua região anterior [75, 81]. Um dos primeiros estudos a relatar a participação do hipotálamo na regulação da temperatura corporal foi realizado por Magoun et al. [46]. O aquecimento local do cérebro de gatos demonstrou a existência de uma região reativa, incluindo a parte dorsal do hipotálamo, a qual responde ao aumento da temperatura cerebral por meio da aceleração da frequência respiratória e, em alguns experimentos, pelo aparecimento de suor nas patas.

Um dos mecanismos de dissipação de calor utilizados pelos roedores é a saliva espalhada

sobre o pêlo e outras superfícies corporais. A saliva é aplicada para expor superfícies vascularizadas como as patas, o escroto e a base da cauda [15] e é também espalhada sobre a pele para aumentar a dissipação de calor por meio da evaporação [18]. É importante destacar que a sudorese em roedores, ao contrário dos seres humanos, não é um efector termorregulatório.

Durante o exercício, ocorre o aumento da produção de calor como consequência do metabolismo aumentado. A fim de impedir a elevação da temperatura corporal para valores que ameaçam a sobrevivência, o hipotálamo desencadeia respostas para aumentar a dissipação de calor. O principal mecanismo utilizado pelos roedores é a dilatação dos vasos presentes na pele da cauda e das patas [66, 73, 86]. Assim como a orelha dos coelhos e a mão dos seres humanos, a cauda dos ratos é uma estrutura especializada para a troca de energia com o meio ambiente, caracterizada por uma elevada razão entre superfície e volume, ausência de pêlos, uma densa rede de vasos sanguíneos e a presença de anastomoses arteriovenosas [82]. O aumento do fluxo sanguíneo na pele, possibilitando uma maior dissipação de calor pelo corpo, é possivelmente resultado da diminuição da atividade simpática para a cauda. Essa hipótese é reforçada pela observação que a denervação simpática lombar aumenta o fluxo sanguíneo na cauda para valores semelhantes aos verificados quando os ratos estão em hipertermia [66, 110]. Fatores locais também estão envolvidos nos ajustes do fluxo sanguíneo para a cauda durante o exercício. O óxido nítrico é uma substância vasodilatadora produzida localmente que parece estar envolvida nesse processo [110].

A temperatura interna elevada é um fator limitante do desempenho durante o exercício prolongado em roedores [11, 35, 78, 86, 90, 106] e em seres humanos [12, 14, 17, 61]. O mecanismo responsável pela interrupção do exercício devido a um aumento na temperatura interna em roedores não está claro, existindo controvérsias na literatura se essa antecipação da fadiga é causada por uma temperatura interna absoluta ($^{\circ}\text{C}$) [11, 106], pela taxa de acúmulo de calor ($\Delta \text{cal}\cdot\text{min}^{-1}$) [78] ou por ambos mecanismos.

Durante o exercício realizado em ambiente quente, os ratos são incapazes de espalhar a saliva sobre a pele e portanto a evaporação tem menor participação na dissipação de calor [86]. Os animais foram incapazes de atingir um equilíbrio térmico durante o exercício em um ambiente quente com temperatura seca de $34,0^{\circ}\text{C}$, embora a temperatura da pele da cauda tenha aumentado até $39,4^{\circ}\text{C}$. Shellock e Rubin [86] sugeriram que a temperatura ambiente escolhida pode ter superestimado a capacidade termorregulatória e / ou os ratos não são capazes de regular a temperatura corporal com a mesma eficácia que outras espécies, durante o exercício.

Provavelmente o exercício por períodos prolongados na esteira representa uma condição experimental artificial, na qual os ratos regulam com dificuldade suas temperaturas internas. Fuller et al. [11] acrescentam que os ratos são animais noturnos que realizam exercício e procuram alimentos à noite, quando a dissipação de calor por convecção e irradiação está aumentada. Dessa forma, é improvável que existam circunstâncias em que a temperatura corporal exceda o limite térmico superior para a continuidade do exercício, no habitat natural dos ratos.

Alguns estudos indicam que o exercício é interrompido quando uma temperatura interna crítica é atingida, independentemente da temperatura interna inicial e do ambiente [11, 14, 106]. É importante destacar que o aquecimento corporal dos animais pré-exercício e o aumento da temperatura ambiente reduziram o tempo gasto até atingir a temperatura interna limitante do desempenho, antecipando a fadiga. Nielsen et al. [61] também verificaram que a temperatura esofágica aumentou durante o exercício até um valor crítico de 39,9° C, quando os sujeitos foram incapazes de continuar a atividade, independentemente do estado de aclimação ao ambiente quente.

Embora os ratos apresentassem uma temperatura interna crítica que limitou o desempenho, Walters et al. [106] encontraram valores 2 a 3° C superiores aos verificados por Fuller et al. [11] e Lacerda et al. [35]. Isso pode ser atribuído aos critérios diferentes utilizados para a determinação do momento da fadiga. A coerção causada pelo estímulo elétrico, utilizada em Walters et al. [106], pode ter induzido os animais a correrem em uma intensidade que ultrapassou o limite para o exercício voluntário, com maior probabilidade de choque hipertérmico e morte.

Diferente dos estudos anteriores, Matthew [48] não observou a existência de uma temperatura corporal que limitasse o desempenho físico. Quanto maior a temperatura ambiente, menor o tempo total de exercício, maior a taxa de acúmulo de calor e maior a temperatura colônica dos ratos no momento da exaustão. Da mesma forma, Rodrigues et al. [78] não observaram uma temperatura interna limite relacionada à interrupção do exercício em ratos. A taxa de acúmulo de calor foi a variável de maior correlação com o tempo total de exercício, principalmente em ambientes quentes, quando a dificuldade de dissipação de calor é maior. Foi verificado também que quanto mais intenso o exercício ou quanto maior a temperatura ambiente, menor o tempo total de exercício [78].

Além disso, o aumento da dissipação de calor durante o exercício é fundamental para determinar o desempenho dos ratos. Recentemente, Lacerda et al. [35] observaram que a injeção

intracerebroventricular (icv) de L-NAME, inibidor da síntese de óxido nítrico, aumentou a temperatura corporal interna em que a vasodilatação da cauda foi desencadeada, amplificando o aumento da temperatura corporal induzido pelo exercício. A injeção de L-NAME reduziu o trabalho realizado, que se correlacionou com a taxa de aquecimento corporal nos minutos iniciais de exercício.

1.2 Participação dos receptores colinérgicos centrais na manutenção da homeostase

Os neurônios que contêm acetilcolina e as enzimas responsáveis pela síntese e degradação do neurotransmissor estão amplamente distribuídos pelo SNC. Os principais sistemas colinérgicos que foram identificados por técnicas de imuno-histoquímica são: o prosencefálico médio-basal, o extra-piramidal, o parabraquial, o reticular e os neurônios colinérgicos dos nervos craniais motores [5, 74]. Estudos histoquímicos da década de 80 ampliaram o conhecimento do sistema colinérgico no hipotálamo, revelando a existência de um sistema tubero-infundibular e a presença de colina acetiltransferase nos neurônios da área pré-ótica e das regiões hipotalâmicas medial e lateral [74, 94].

Existem evidências da participação dos receptores colinérgicos centrais no controle do metabolismo de animais em repouso e durante situações estressantes tais como a imobilização e a neurocitoglicopenia [7, 22, 25, 76, 96]. Os estudos sugerem que a estimulação colinérgica central produz um aumento da síntese hepática de glicose por meio da glicogenólise e da gliconeogênese, além de aumentar as concentrações plasmáticas de lactato. Esta resposta foi relacionada à ativação da glicogenólise muscular [7] e provavelmente foi causada pelo aumento da atividade motora, conforme indicado pela elevação do consumo de oxigênio após a estimulação colinérgica central [76].

O aumento da concentração plasmática de glicose é inibido pela adrenodemedulação bilateral [7, 22, 25, 76], sugerindo a participação das catecolaminas adrenais na estimulação da produção hepática de glicose. Além disso, esse mecanismo colinérgico central é mediado por receptores muscarínicos, uma vez que a administração icv de atropina prévia à de agonistas colinérgicos impede o aumento das concentrações plasmáticas de glicose e de glucagon [22, 25, 96].

A estimulação dos receptores colinérgicos também induz ajustes termorregulatórios, sendo

que a injeção central de agonistas colinérgicos reduz a temperatura corporal em ratos [2, 43, 100]. Esse efeito é mediado por receptores colinérgicos muscarínicos, em especial, os subtipos M1 e M3 [2, 43, 100]. É importante destacar que a administração intra-peritoneal dos agentes colinérgicos, na mesma concentração utilizada para as injeções no SNC, não altera a temperatura corporal dos ratos, mostrando que o efeito é específico à estimulação dos receptores centrais [100].

Lin et al. [43] avaliaram os efeitos produzidos pela injeção de agonistas e antagonistas colinérgicos no ventrículo lateral cerebral na termorregulação de ratos em repouso. As injeções icv de acetilcolina, pilocarpina, fisostigmina, atropina e hemicolina produziram hipotermia dependente da dose, nas duas temperaturas ambientes estudadas (8 e 22° C). A hipotermia induzida pelos agonistas colinérgicos (acetilcolina, pilocarpina e fisostigmina) foi causada pela redução da produção metabólica de calor e pela vasodilatação cutânea da cauda e da pata dos ratos. Enquanto a hipotermia induzida pelos antagonistas colinérgicos foi causada apenas pela redução da produção metabólica de calor.

Por outro lado, Kirkpatrick e Lomax [32] observaram que a atropina possui um efeito dual sobre a temperatura corporal do rato, dependendo se o local da ação é predominantemente periférico ou central. As injeções de sulfato de atropina ou metilatropina, via intra-peritoneal, causaram uma redução da temperatura retal. Enquanto a injeção de sulfato de atropina na região da área pré-ótica e hipotálamo anterior aumentou a temperatura retal. O aumento da temperatura foi atribuído ao bloqueio dos receptores colinérgicos, o que pode ter aumentado o ponto de ajuste hipotalâmico e, conseqüentemente, ativado mecanismos de produção e de conservação de calor [32]. Entretanto, os resultados de Baird e Lang [2] e de Takahashi et al. [95] não confirmam o achado que injeção central do antagonista colinérgico causa hipertermia. A injeção de sulfato de atropina no ventrículo lateral esquerdo diminuiu a temperatura retal em gatos e em ratos [2], enquanto a perfusão de atropina nos núcleos paraventriculares, nos núcleos supra-óticos, na área hipotalâmica anterior e no ventrículo lateral não modificou a temperatura corporal dos ratos [95]. Lin et al. [43] também observaram que uma determinada dose de sulfato de atropina, embora não produzisse alteração na temperatura retal dos ratos, atenuou a hipotermia causada pelos agonistas colinérgicos. As diferenças entre os estudos podem ter sido causadas pelos diferentes locais centrais em que o bloqueador dos receptores muscarínicos foi injetado, pelas diferentes concentrações da substância ou ainda pelas diferentes temperaturas do ambiente onde os experimentos foram realizados.

Além das alterações do metabolismo e da termorregulação, a estimulação colinérgica central leva a um aumento da pressão arterial [1, 38, 69], sendo que essa resposta é bloqueada pela administração prévia icv de atropina [1, 38]. Após a injeção icv de neostigmina a expressão de c-fos, marcador de atividade neuronal, foi observada no núcleo posterior do hipotálamo, nos núcleos paraventriculares, nos núcleos supra-óticos, no núcleo pré-mamilar ventral, na área preótica medial, no septo lateral e na amígdala central [38]. Os resultados sugerem que os receptores colinérgicos muscarínicos dessas áreas estejam envolvidos diretamente nas respostas pressóricas observadas e não em respostas relacionadas ao barorreflexo, uma vez que a administração intravenosa de fenoxibenzamina, antagonista adrenérgico, impediu o aumento da pressão arterial sem alterar a expressão de c-fos nessas áreas cerebrais.

A maioria dos estudos sobre a regulação hipotalâmica do metabolismo energético periférico e da termorregulação foi realizada em animais anestesiados [1, 22, 25] ou acordados em repouso [1, 2, 8, 32, 38, 43, 70, 76, 100]. O exercício representa um modelo experimental para o estudo da participação do SNC nos ajustes dos sistemas fisiológicos em uma situação diferente das condições basais normais [40, 41, 77].

Durante o exercício, a injeção icv de fisostigmina atenuou o aumento da temperatura interna, sem modificar o consumo de oxigênio e o desempenho em comparação aos ratos controles [70, 77], sugerindo a facilitação dos mecanismos de dissipação de calor. A estimulação colinérgica central também aumentou a pressão arterial e, na seqüência, a temperatura da cauda. Como o aumento da temperatura corporal ocorreu após o aumento da temperatura da cauda, acredita-se que a dissipação de calor tenha sido modulada principalmente por estímulos não termorregulatórios. De fato, o aumento da temperatura da cauda induzido pela fisostigmina correlacionou-se com o aumento da pressão arterial sistólica em repouso e durante o exercício. Além disso, é provável que os vasos da cauda do rato não estivessem dilatados em função da pressão diastólica aumentada. Portanto, o aumento da temperatura da cauda possivelmente foi uma conseqüência de um aumento do fluxo sangüíneo devido à pressão arterial média aumentada e a maior dissipação de calor ocorreu em função do ajuste cardiovascular [70].

O aumento da dissipação de calor induzido pela estimulação colinérgica central também foi observada no período pós-exercício [72]. A injeção icv de fisostigmina aumentou a temperatura da pele dos ratos, embora a temperatura intraperitoneal não tenha sido diferente dos animais controles. Esses dados reforçam a hipótese que o aumento da temperatura da pele, após a

estimulação dos receptores colinérgicos centrais, representa um aumento do fluxo sanguíneo local causado pela pressão arterial elevada.

Lima et al. [41] verificaram a redução do tempo total de exercício após a injeção sulfato de atropina no ventrículo cerebral lateral direito de ratos. A atropina icv modificou o ajuste do sistema nervoso autônomo na disponibilização de substratos energéticos por retro-alimentação, uma vez que a glicemia permaneceu elevada durante o exercício em comparação com os animais controles. Como as concentrações plasmáticas de glicose estavam aumentadas, sugeriu-se que a redução do tempo total de exercício causado pela atropina não esteve relacionada à disponibilidade de substratos energéticos. Além disso, o efeito da atropina icv na redução do desempenho foi amplificado nos ratos adrenodemedulados [41]. Não foram realizados experimentos para verificar se a redução do desempenho estava associada à termorregulação.

É difícil determinar os núcleos envolvidos nas respostas desencadeadas pela injeção de drogas nos ventrículos cerebrais. Segundo Lima et al. [41], os neurônios colinérgicos que controlam a atividade motora podem estar localizados dentro da linha ependimal do ventrículo ou em tecidos nervosos adjacentes ao sistema ventricular, embora seja difícil prever a qual distância a atropina se difunde a partir do ventrículo em uma concentração efetiva. Com o objetivo de se responder esta questão, estudos buscaram identificar as áreas hipotalâmicas que possam estar envolvidas nos ajustes dos sistemas fisiológicos durante o exercício.

Dentre essas áreas cerebrais específicas encontram-se os núcleos ventromediais hipotalâmicos (VMH), os quais estão relacionados ao controle do metabolismo [7, 57, 84, 85, 96], da alimentação [103], da termorregulação [27, 54, 57, 98] e do sistema cardiovascular [20, 98]. Esse núcleo ainda está relacionado a alguns comportamentos, dentre eles a motivação para a corrida [111, 112], as respostas agressivas [56] e as respostas de medo inato verificadas na presença de um predador [9].

1.3 Núcleos ventromediais hipotalâmicos (VMH)

Os VMH do rato são divididos em duas massas celulares compactas, as subdivisões dorsomedial e ventrolateral, separadas por uma zona central escassa de neurônios [83]. Os núcleos estão localizados próximos ao terceiro ventrículo e são relacionados rostralmente ao hipotálamo anterior, dorsalmente aos núcleos dorsomediais hipotalâmicos, lateralmente à área hipotalâmica lateral e ventromedialmente ao núcleo arqueado (Arc). Estudos anatômicos descreveram as

conexões dos VMH com outras áreas hipotalâmicas e cerebrais. As injeções de isótopos que marcaram diferencialmente as porções ventrolateral e dorsomedial dos VMH demonstraram que a maioria das conexões longas (para o septo, amígdala, áreas tegmentais centrais e locus coeruleus) se originam da porção ventrolateral dos VMH. Além disso, Saper et al. [83] observaram que as fibras descendentes a partir dos VMH possuem três vias principais: (I) através da região periventricular; (II) através do hipotálamo medial e do feixe prosencefálico medial; (III) bilateralmente através da comissura supra-ótica ventral.

Luiten e Room [45] observaram que os VMH possuem conexões intra-hipotalâmicas com a área preótica medial, com o núcleo hipotalâmico anterior, núcleo supraquiasmático, núcleo paraventricular, núcleo dorsomedial hipotalâmico e com o tecido ependimal da parede do 3º ventrículo. No entanto, não foram demonstradas conexões entre o VMH e a área hipotalâmica lateral, embora ambas áreas apresentem interconexões com células em comum [45].

Os VMH foram historicamente reconhecidos como o centro da saciedade e a sua lesão, por meio de correntes elétricas, tem sido utilizada como modelo experimental para o estudo da obesidade [6]. Ratos submetidos à lesão eletrolítica do VMH apresentam maior ganho de peso corporal [19, 103], causado pela aumento da ingestão de alimentos, redução da atividade física comportamental e pela ausência de respostas termogênicas do tecido adiposo marrom [99, 103]. Mesmo quando os animais lesionados são submetidos a uma restrição alimentar, impedindo a hiperfagia e o consequente ganho de peso, verificou-se alteração da composição corporal (menor ganho de massa muscular e menor aumento do comprimento dos ossos), redução da atividade comportamental e do consumo de oxigênio basal em comparação com os ratos submetidos à cirurgia fictícia (*sham*) [103]. Além disso, Hansen et al. [19] mostraram que a lesão do VMH aumentou a concentração plasmática de insulina com consequente elevação da síntese de ácidos graxos, da atividade da lipase lipoproteica presente no tecido adiposo e redução da concentração de triglicerídeos no plasma. Essas alterações metabólicas foram semelhantes às observadas em ratos hiperinsulinêmicos que receberam a administração diária de insulina. Quando os ratos lesionados nos VMH ficaram diabéticos devido a injeção de estreptozotocina, o aumento da síntese de triglicerídeos e da atividade da lipase lipoproteica foram bloqueados, mostrando a participação da insulina nessas respostas [19].

Existem evidências de que os receptores colinérgicos presentes nos VMH participam da regulação da atividade do sistema nervoso autonômico simpático, avaliada pela mobilização de glicose [7, 96]. Brito et al. [7] observaram que as injeções intra-ventromediais de carbacol

ou de neostigmina aumentaram as concentrações plasmáticas de glicose e lactato. A injeção de neostigmina aumentou a taxa de incorporação de ^{14}C pela glicose circulante, sugerindo um maior fluxo gliconeogênico. Além disso, os aumentos da glicemia plasmática e das concentrações de acetilcolina e de colina no dialisato induzidos pela perfusão de cloreto de potássio nos VMH foram atenuados pela perfusão simultânea de sulfato de atropina [96]. A perfusão isolada de neostigmina reproduziu o aumento da concentração plasmática de glicose induzido pelo cloreto de potássio, um estimulador da atividade neuronal [96].

O bloqueio funcional dos VMH de ratos em repouso aumentou o metabolismo e promoveu respostas neuroendócrinas semelhantes às induzidas pelo exercício, embora os animais não tenham aumentado a sua atividade física [104]. Foram observados aumentos das concentrações plasmáticas de catecolaminas, glucagon, corticosterona, glicose e lactato. Vissing et al. [104] sugeriram que a injeção de anestésico local nos VMH pode ter inibido a atividade de neurônios com ações inibitórias sobre o sistema nervoso autônomo simpático e sobre os corticotrofos da hipófise anterior. Existem dados que descrevem a existência do neurotransmissor inibitório ácido γ -aminobutírico (GABA) nos VMH [58, 59, 112].

O hipotálamo ventromedial modula a atividade do sistema nervoso autônomo para as vísceras. A estimulação elétrica dos VMH reduziu a frequência de estimulação do ramo hepático do nervo vago e aumentou a atividade simpática do nervo esplâncnico [113], mecanismo que pode explicar o aumento da concentração de glicose verificado com a estimulação colinérgica dos VMH [7, 96]. Quando o hipotálamo lateral foi estimulado, respostas opostas foram observadas, indicando uma oposição na regulação da função autonômica entre essas duas áreas hipotalâmicas [113].

Outra via moduladora da atividade simpática na qual os VMH participam é o eixo hipotálamo - medula das adrenais. Yoshimatsu et al. [114] observaram que as lesões eletrolíticas dos VMH aumentaram gradualmente a frequência de disparo do nervo simpático adrenal, a qual não foi modificada pela estimulação elétrica do mesmo núcleo. No entanto, a estimulação elétrica dos VMH atenuou o aumento da atividade do nervo simpático adrenal induzido pela injeção icv de 2-deoxiglicose (2-DG). Outra evidência do envolvimento dos VMH no eixo simpato-adrenal foi fornecida por Brito et al. [7]. A adrenodemedulação bilateral dos ratos impediu o aumento da glicemia e reduziu o aumento do lactato plasmático induzidos pela injeção intra-ventromedial de agonistas colinérgicos. E ainda, Lima [40] verificou que o aumento da concentração plasmática de adrenalina induzido pelo exercício foi amplificado

pelo bloqueio dos receptores muscarínicos presentes nos VMH. Esses resultados indicam que o envolvimento dos VMH depende da intensidade e da maneira que o sistema simpato-adrenal é ativado, uma vez que existem vias neurais específicas que respondem a cada estímulo.

A participação dos VMH nos ajustes neuro-endócrinos e na mobilização de substrato ocorre também durante o exercício. O bloqueio dos VMH com anestésico local Marcain atenuou o aumento das concentrações plasmáticas de glicose durante o exercício. Essa redução da glicemia foi acompanhada pela redução das concentrações de noradrenalina e adrenalina [104]. Além disso, os dados sugerem que houve uma inibição relativa da secreção de corticosterona e de glucagon, simultaneamente à estimulação da secreção de insulina. Os VMH parecem não estar envolvidos na mobilização dos lipídios e na regulação do glicogênio muscular durante o exercício. Como durante o repouso o bloqueio funcional dos VMH aumentou a atividade simpática, resposta contrária àquela observada quando o mesmo procedimento foi realizado durante o exercício, Vissing et al [104] hipotetizaram que a modulação da sistema nervoso autônomo pelos VMH depende da condição experimental estudada.

Os VMH possuem uma concentração de glicose que é aproximadamente 20% da plasmática, em condições euglicêmicas, e são capazes de detectar a hipoglicemia local [105]. Os neurônios sensíveis à glicose presentes nos VMH cerebrais são análogos aos glicosensores existentes no fígado [37]. A perfusão de D-glicose unilateralmente no VMH atenuou o aumento das concentrações plasmáticas de catecolaminas e de noradrenalina induzido pela administração intravenosa de insulina, embora a hipoglicemia plasmática não tenha sido alterada. Esses dados sugerem que os ajustes contra-regulatórios à hipoglicemia são desencadeados pela redução da concentração de glicose nos VMH. A participação da neurotransmissão noradrenérgica do hipotálamo medial basal nos ajustes da atividade simpato-adrenal e da mobilização de substratos induzidos pelo exercício também já foi descrita [16, 84, 85].

De maneira geral, os neurônios glicosensores estão localizados em áreas cerebrais envolvidas no controle da função neuro-endócrina, do metabolismo de nutrientes e da homeostase energética [37, 92]. O hipotálamo medial basal é uma região reconhecidamente envolvida na regulação da ingestão de alimentos e, como esperado, experimentos demonstraram também a sua participação no controle da temperatura corporal.

Nakayama e Imai-Matsumura [57] verificaram que os neurônios do VMH sensíveis à glicose são aqueles que recebem com maior frequência os sinais térmicos da pele do escroto em comparação com os neurônios que não são sensíveis à estimulação com glicose. Além disso,

foi observado que os neurônios do VMH responderam de maneira semelhante ao aquecimento periférico e da área pré-ótica. Todos os 16 neurônios inibidos pelo aquecimento da pele do escroto, também foram inibidos pelo aquecimento central [57]. Outra evidência do envolvimento dos VMH na termorregulação foi fornecida por Murakami e Morimoto [54]. O resfriamento da área pré-ótica e hipotálamo anterior aumentou a atividade metabólica dos VMH, assim como de outras áreas cerebrais tais como: o tálamo antero-ventral, o tálamo dorsomedial, a substância negra e o núcleo rubro. No entanto, o aquecimento local da área pré-ótica não alterou a atividade metabólica dos VMH [54].

Imai-Matsumura et al. [27] relataram que a sensibilidade dos neurônios dos VMH ao estímulo térmico depende da condição em que os experimentos foram realizados: *in vivo* ou *in vitro*. Nos experimentos *in vivo*, dos 44 neurônios que receberam eletrodos, 7 foram sensíveis ao calor, 11 foram sensíveis ao frio e 26 não apresentaram resposta ao estímulo térmico aplicado na área pré-ótica. Por outro lado, durante os experimentos *in vitro*, dos 47 neurônios que receberam eletrodos, 27 foram sensíveis ao calor, 1 foi sensível ao frio e 19 não apresentaram resposta ao estímulo térmico. Como o resfriamento local estimulou menos neurônios *in vitro*, os neurônios dos VMH sensíveis ao frio estimulados pelo resfriamento da área pré-ótica / hipotálamo anterior podem ter recebido estímulos neuronais, provavelmente provenientes desse centro termorregulador. Conexões anatômicas e funcionais entre o VMH e a área pré-ótica já foram descritas [45, 98].

Os estudos demonstram a participação dos VMH na produção de calor em ratos, especialmente na termogênese não induzida pelo tremor [49, 50, 52, 62, 98]. Nagashima et al. [55] propuseram que os VMH, em conjunto com os núcleos dorsomediais e paraventriculares, participam de um mecanismo hipotalâmico excitatório da atividade do tecido adiposo marrom. O bloqueio dos VMH com anestésico local aboliu o aumento da temperatura do tecido adiposo marrom interescapular causado pela estimulação elétrica da área pré-ótica medial [98]. Além disso, animais com os VMH lesionados foram incapazes de responder ao resfriamento da pele, enquanto os ratos controles aumentaram a frequência de estimulação eferente para o tecido adiposo marrom interescapular quando submetidos ao mesmo estímulo térmico [62].

Os experimentos realizados por Monda et al. [49, 50, 52] confirmam que os VMH estão envolvidos nas respostas termogênicas induzidas por diferentes estímulos. As lesões dos VMH atenuaram o aumento da atividade dos neurônios eferentes que inervam o tecido adiposo marrom inter-escapular, da temperatura do tecido e da temperatura colônica induzidos pela

injeção icv de prostaglandina E1 [50] ou de orexina A [52]. E ainda, o mesmo procedimento experimental atenuou o aumento do consumo de oxigênio e da estimulação do tecido adiposo marrom induzidos pela ingestão de alimentos [49].

No entanto, Bamshad et al. [3] injetaram vírus da raiva atenuado no tecido adiposo marrom inter-escapular e verificaram que o núcleo paraventricular, a área preótica medial, o hipotálamo lateral e o núcleo supra-quiasmático apresentaram mais neurônios infectados que os VMH. Os autores questionaram que os resultados de estudos envolvendo estimulação elétrica ou lesões podem ser de difícil interpretação pois é difícil confinar os procedimentos às regiões cerebrais de interesse. E, no caso do VMH, esses procedimentos experimentais podem afetar neurônios que se projetam a partir do núcleo paraventricular e que cursam próximo e ao redor do VMH. Contudo, Monda et al. [50, 52] utilizaram o ácido ibotênico para lesionar especificamente os corpos neuronais presentes nos VMH e confirmaram a relação funcional entre essa área hipotalâmica e a atividade dos neurônios eferentes que inervam o tecido adiposo marrom.

Morimoto et al. [53] verificaram a participação do VMH nas respostas de defesa contra o frio, incluindo o aumento da produção de calor, diminuição da dissipação de calor e indução de formas comportamentais de conservação de calor em coelhos. A estimulação elétrica unilateral do VMH reduziu a temperatura da pele da orelha e aumentou o consumo de oxigênio, levando a um aumento progressivo da temperatura retal. Além disso, após a estimulação, a frequência respiratória diminuiu, os animais encolheram-se e houve tremor nos membros inferiores. Quando os eletrodos foram posicionados em outras regiões (hipotálamo lateral, por exemplo), a estimulação elétrica não alterou as respostas termorregulatórias autonômicas ou comportamentais[53].

O pré-tratamento intravenoso com fentolamina, um bloqueador α -adrenérgico, atenuou a redução da temperatura da pele induzida pela estimulação elétrica do VMH. Morimoto et al. [53] também verificaram que as respostas à estimulação do VMH são alteradas em função da temperatura ambiente. A redução da temperatura ambiente de 22° C (resultados descritos acima) para 17° C modificou os ajustes do fluxo sanguíneo na pele. Como no ambiente mais frio os vasos da orelha já se encontravam constrictos, a estimulação elétrica do VMH não causou ajustes ainda maiores.

Simth et al. [88] forneceram evidência adicional sobre o envolvimento dos VMH nos ajustes do fluxo sanguíneo na cauda. Utilizando uma técnica anti-drômica, foi demonstrado que cinco

de seis ratos apresentaram neurônios infectados nos VMH, 7 dias após a injeção do vírus da raiva atenuado nas fibras que inervam a artéria ventral da cauda.

As alterações do fluxo sanguíneo na cauda após a manipulação dos VMH podem estar relacionadas ao envolvimento desses núcleos nos ajustes do sistema cardiovascular. Tem sido aceito que as vias descendentes a partir da região antero-ventral do 3º ventrículo (AV3V) atravessam a área dos VMH para ativar os neurônios simpáticos [33]. Thornhill et al. [98] observaram que as alterações hemodinâmicas (pressão arterial média e frequência cardíaca) induzidas pela estimulação da área pré-ótica medial provavelmente são mediadas por vias eferentes que atravessam os VMH. Resultados semelhantes foram encontrados por Bastos et al. [4] que observaram a redução da resposta pressora causada pela injeção de angiotensina II e de agonistas adrenérgicos na área pré-ótica medial, em ratos com os VMH lesionados. Por outro lado, Valladão et al. [102] mostraram que as lesões eletrolíticas da região AV3V reduzem as repostas pressóricas, dipsogênicas e natriuréticas induzidas pela ativação química do hipotálamo ventromedial. É possível, portanto, que as vias eferentes a partir dos VMH estimulem a região AV3V antes da ativação simpática final. Esses resultados são explicados pela existência de projeções recíprocas entre os VMH e a área pré-ótica medial conforme demonstrado no estudo realizado por Saper et al. [83]. Aumentos da pressão arterial média e da atividade do nervo simpático renal também foram observados após a injeção de leptina nos VMH [47].

Os receptores colinérgicos dos VMH participam dos ajustes cardiovasculares, uma vez que a injeção de carbacol aumentou a pressão arterial média, a frequência cardíaca, a ingestão de água, a excreção de sódio e reduziu o volume urinário dos ratos [101, 102]. A injeção de nicotina também aumentou a pressão arterial e a frequência cardíaca, indicando que os receptores colinérgicos nicotínicos também modulam os ajustes cardiovasculares [101]. As respostas hemodinâmicas induzidas pelo carbacol foram atenuadas pelo pré-tratamento com propranolol e prazosin, sugerindo a interação entre as vias colinérgicas e adrenérgicas na regulação cardiovascular [101].

Alguns neurônios dos VMH estão envolvidos na motivação para corrida. Yokawa et al. [111] estudaram os efeitos da estimulação de diferentes áreas hipotalâmicas no comportamento voluntário para a realização de exercício na roda de corrida. A injeção de um polímero absorvente de água nas regiões hipotalâmicas anterior, dorsomedial, posterior e lateral, aumentou a corrida espontânea em ratos. A estimulação dos VMH também induziu o comportamento de

corrida, sendo que o número de rotações na roda de corrida foi superior ao desencadeado pela estimulação das outras áreas hipotalâmicas. Dos 19 ratos induzidos a correr pela estimulação do VMH, 6 realizaram exercício até a morte e os demais retornaram ao estado de repouso dentro de 3 horas [111]. Sugeriu-se que a pressão produzida pelo inchaço, após a injeção do hidrogel, deforme severamente a arquitetura celular dos VMH, interrompendo as redes neurais com as aferências responsáveis pela retro-alimentação dos órgãos periféricos e impedindo a inibição do estímulo para a realização da corrida.

Em um trabalho subsequente, Yokawa et al. [112] mostraram que a injeção do hidrogel reduziu a concentração do neurotransmissor GABA no VMH e, conseqüentemente, os neurônios relacionados à corrida foram libertados da inibição GABAérgica. É importante destacar que o GABA é o principal neurotransmissor inibitório do SNC. O bloqueio dos receptores GABA-A induziu a realização de atividade física na roda de corrida, sendo que o número de rotações foi dependente da concentração de bicuculina injetada. Outra evidência do envolvimento das vias GABAérgicas surgiu a partir da co-administração de hidrogel e de GABA que reduziu a atividade dos ratos nas rodas de corrida em comparação com a administração apenas do hidrogel [112]. Foi demonstrado também que aminoácidos excitatórios atuando nos receptores kainato participam na indução da corrida e que a liberação desses aminoácidos é bloqueada parcialmente pela atividade GABAérgica nos neurônios pré-sinápticos [59]. Narita et al. [58] ainda acrescentam que o aumento da corrida é acompanhada por alterações neuro-endócrinas relacionadas à mobilização de substratos energéticos, sugerindo uma função integrativa dos VMH durante o exercício. A injeção de kainato aumentou as concentrações plasmáticas de glicose, noradrenalina, adrenalina e corticosterona [58].

Lima [40] verificou que o bloqueio dos receptores muscarínicos dos VMH reduziu o tempo total de exercício a $80\%VO_{2max}$ em ratos não treinados. Entretanto, a injeção de metilatropina não alterou a transformação máxima de energia pela via oxidativa, uma vez que os ratos injetados com metilatropina e com salina não apresentaram diferenças no VO_{2max} e na velocidade máxima de corrida durante um exercício progressivo até a exaustão. Durante o exercício a $80\% VO_{2max}$, o bloqueio colinérgico antecipou em cerca de 50% do tempo total de exercício o aumento das concentrações plasmáticas de lactato e de glicose, além dos aumentos da pressão arterial média e a frequência cardíaca [40]. Essas variáveis fisiológicas não foram diferentes no momento da fadiga, embora o exercício tenha sido interrompido em tempos diferentes nas duas situações experimentais. Isso significa que as variáveis apresentaram um

maior aumento em função do tempo, em minutos, na situação metilatropina em comparação com a situação controle. Os resultados sugerem que os receptores muscarínicos presentes nos VMH estão envolvidos na integração central da retro-alimentação proveniente dos diferentes sistemas durante o exercício e / ou nos ajustes de pré-alimentação provenientes dos centros cerebrais superiores [40]. O bloqueio dos receptores muscarínicos aumentou a intensidade do exercício percebida centralmente, o que foi indicado pela antecipação das respostas simpáticas, e portanto a decisão para a interrupção do exercício foi antecipada nos animais que foram injetados com metilatropina.

Diante da importância da regulação da temperatura corporal durante o exercício físico e dos dados que mostram a participação da acetilcolina cerebral nesse ajuste, é importante compreender se a redução do desempenho causada pelo bloqueio da neurotransmissão colinérgica está relacionada à termorregulação. Além disso, os VMH são núcleos hipotalâmicos que estão envolvidos na modulação do fluxo sanguíneo cutâneo, o principal mecanismo de dissipação de calor dos ratos durante a atividade física. No entanto, não existem dados referentes a modulação do fluxo sanguíneo cutâneo pelos VMH em ratos se exercitando e, portanto, a temperatura da cauda foi medida após a injeção de metilatropina no hipotálamo. E por fim, a medida das variáveis cardiovasculares representa um índice da atividade do sistema nervoso autônomo simpático e pode auxiliar no entendimento das alterações no fluxo sanguíneo nos vasos da cauda, uma vez que o fluxo está diretamente relacionado à pressão arterial e inversamente à resistência periférica.

Capítulo 2

Objetivos

Os objetivos do presente estudo foram verificar se os receptores colinérgicos muscarínicos presentes nos núcleos ventromediais hipotalâmicos participam:

1- na determinação do tempo para a fadiga em exercício realizado a 80% VO_{2max} .

2- nos ajustes termorregulatórios e cardiovasculares em exercício realizado a 80% VO_{2max} até a fadiga.

Capítulo 3

Material e métodos

3.1 Cuidados éticos

Os procedimentos utilizados foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CETEA) da Universidade Federal de Minas Gerais (Protocolo 17/05; Anexo 1).

3.2 Animais

Foram utilizados ratos adultos da linhagem Wistar, pesando entre 250 e 350g, provenientes do Centro de Bioterismo do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais. Antes das cirurgias, os animais foram mantidos coletivamente em caixas de polietileno (40 x 33 x 17 cm), com até 5 ratos por caixa. Após a cirurgia para o implante de cânulas cerebrais crônicas, os animais foram transferidos para gaiolas individuais. As caixas de polietileno e as gaiolas foram limpas a cada dois dias. Os ratos foram mantidos em uma sala com temperatura seca controlada em $24,1 \pm 1,5^\circ \text{C}$, sob um ciclo claro-escuro de 14:10h, com acesso a ração granulada (Nuvilab - CR1) e água *ad libitum*.

3.3 Delineamento experimental

Dois grupos distintos de animais foram utilizados para a medida das variáveis. No primeiro grupo experimental, foram medidas a temperatura interna e a temperatura da pele da cauda. Enquanto no segundo grupo, foram realizadas as medidas das variáveis cardiovasculares. Em ambos os grupos, o tempo total de exercício, a temperatura no interior da esteira e as tem-

peraturas ambientes seca e úmida foram registrados.

Antes de iniciar o exercício, os ratos foram transportados em uma gaiola individual e pesados em uma balança eletrônica (Filizola) com precisão de 0,5 g. Após esse procedimento, os animais foram levados à sala de experimentos e colocados dentro de uma caixa de polietileno para o registro das variáveis durante 60 minutos em repouso, tempo necessário para a obtenção dos valores basais. No primeiro grupo, o registro da temperatura interna foi realizado a cada minuto, sendo que a placa receptora dos sinais provenientes do sensor de temperatura foi colocada sob a caixa de plástico. Para que os animais ficassem quietos, a temperatura da cauda não foi medida durante o repouso.

No segundo grupo, antes dos animais serem colocados na sala de experimentos, uma conexão de polietileno (PE50) preenchida com salina heparinizada foi conectada ao cateter arterial. A outra extremidade da conexão foi posteriormente conectada ao transdutor de pressão, possibilitando a aquisição dos dados. O registro da pressão arterial foi realizado continuamente durante os 20 minutos finais de repouso.

Terminado o período de repouso, os animais foram retirados da caixa de polietileno e colocados sobre uma mesa onde receberam as injeções de 200 μ L de $2,5 \times 10^{-2}$ M de metilatropina ou de NaCl 0,15 M. Em seguida, os ratos foram transferidos para a esteira e, dez minutos após o início das injeções, os ratos foram submetidos ao exercício até a fadiga. O exercício consistiu de uma corrida na esteira rolante a 24 m/min com 5% de inclinação. Essa intensidade de exercício corresponde a aproximadamente 80% do VO_{2max} de ratos não treinados [40, 91].

A temperatura da pele da cauda foi registrada a cada 30 segundos de exercício, enquanto as temperaturas ambientes seca e úmida e a temperatura no interior da esteira foram registradas a cada minuto. No primeiro grupo, a temperatura interna dos ratos foi medida a cada 15 segundos. A placa receptora dos sinais provenientes do sensor de temperatura foi posicionada ao lado da esteira. No segundo grupo, a pressão arterial foi medida continuamente durante o exercício. O transdutor de pressão foi posicionado ao lado da esteira, aproximadamente na mesma altura do coração do rato.

Os experimentos foram realizados em ambiente com 23° C de temperatura seca e 60% de umidade relativa do ar.

As duas situações experimentais (salina ou metilatropina) foram realizadas com intervalo mínimo de 48 horas, sempre no mesmo horário do dia. A definição da primeira situação experimental foi aleatória, por meio de sorteio. Os experimentos foram realizados de maneira

duplo-velado, não possibilitando que o responsável pela determinação do momento da fadiga conhecesse qual a droga foi injetada. Para garantir isso, uma segunda pessoa foi responsável por codificar as injeções e por alíquotar as duas soluções em tubos de 500 μL semelhantes. Além disso, o segundo indivíduo ficou responsável pelo registro dos valores das temperaturas ambientes, da pele da cauda e do interior da esteira, evitando que a pessoa responsável pela interrupção do exercício tivesse conhecimento do tempo transcorrido.

3.4 Tratamento dos animais

3.4.1 Seleção dos animais

Os animais capazes de correr em uma esteira rolante (Treadmill Simplex II, Columbus Instruments, EUA), a uma velocidade de 20 m/min, com 5% de inclinação, durante 5 minutos [40] foram selecionados para os experimentos. Dos 122 ratos utilizados nos experimentos, 9 (7,4%) não conseguiram correr.

3.4.2 Implante de sensor de temperatura na cavidade peritoneal e de cânulas crônicas nos núcleos ventromediais hipotalâmicos

Os ratos foram anestesiados com tiopental sódico (50 mg/kg de peso corporal, via intraperitoneal). Para a inserção do sensor de temperatura, uma incisão ventral de aproximadamente 2 cm foi realizada na pele, seguida de outra incisão na linha alba do músculo reto abdominal, possibilitando o acesso à cavidade peritoneal. Após a inserção do sensor, o músculo abdominal e a pele do animal foram suturados.

Os animais foram adaptados ao estereotáxico para pequenos animais (Insight Equipamentos - modelo ETX3/99, SP, Brasil) e, após depilação e assepsia da porção superior da cabeça, foi realizada uma incisão longitudinal na pele e no tecido subcutâneo. Uma injeção de xilocaína com vasoconstritor (solução de cloridrato de lidocaina 2% e de adrenalina 1:200000) foi aplicada no local e o tecido periosteal foi afastado. Cânulas de aço inoxidável (20 mm de comprimento, 0,3 mm de diâmetro externo, 0,1 mm de diâmetro interno) foram implantadas bilateralmente de maneira que a ponta das cânulas foram direcionadas para a porção dorso-medial do hipotálamo ventromedial (VMH) de acordo com o atlas de Paxinos and Watson [68]. As coordenadas utilizadas para o implante das cânulas foram: VMH, 2,5 mm posterior

ao bregma, 0,6 mm a partir da linha mediana e 9,0 mm de profundidade a partir da dura máter. A craniotomia para implantação das cânulas crônicas foi realizada utilizando-se uma broca odontológica. As cânulas foram apoiadas a parafusos e fixadas na calota craniana com cimento odontológico auto-polimerizável (Dental Vip, São Paulo, Brasil). O cimento odontológico foi moldado ao redor das cânulas em forma de um cone. Para evitar o entupimento, as cânulas cerebrais foram protegidas com um mandril de aço inoxidável (0,1 mm de diâmetro externo e 19 mm de comprimento).

Após os procedimentos cirúrgicos, os ratos receberam 0,1 mL de antibiótico (48.000U - Pentabiótico Veterinário Pequeno Porte, via intramuscular) em cada pata traseira, além de analgésico (Banamine injetável, 1,1 mg/kg de peso corporal, via subcutânea) no volume de 0,01 mL em uma das patas traseiras. Os animais tiveram um período de recuperação até que retornassem ao peso pré-cirúrgico.

3.4.3 Familiarização ao exercício na esteira rolante

Após a recuperação da cirurgia para o implante de cânulas crônicas cerebrais, os animais foram familiarizados a correr em uma esteira rolante para pequenos animais a uma velocidade constante de 18 m/min e 5% de inclinação, 5 minutos por dia, durante 5 dias consecutivos. Essa intensidade de exercício corresponde a aproximadamente 60% VO_{2max} [40]. A familiarização foi realizada em um ambiente com temperatura seca de 23° C e umidade relativa do ar de 60%. Nos três dias finais do período de familiarização, os ratos corriam com o termossensor (Yellow Spring Instruments - YSI) afixado na cauda.

O objetivo do exercício preliminar foi mostrar aos animais em qual direção deveriam correr sem ficarem emaranhados com o termossensor de pele.

3.4.4 Implante de cateter na aorta para registro da pressão arterial

Após o período de familiarização ao exercício na esteira rolante, os ratos pertencentes ao segundo grupo foram submetidos ao implante de cateter na aorta esquerda para o registro da pressão arterial. O cateter utilizado foi confeccionado com tubos de polietileno de diâmetros internos e comprimentos diferentes (PE50: 0,58 mm e 7 cm; PE10: 0,28 mm e 3,5 cm), soldados por aquecimento. O cateter foi preenchido com solução de heparina sódica (0,1 mL com 500 U de heparina diluída em 20 mL de salina) para evitar a coagulação do sangue e a

extremidade de PE50 foi ocluída com um pino de aço.

Os animais foram pesados e anestesiados com pentobarbital sódico (50 mg/kg de peso corporal, via intra-peritoneal). Após a assepsia e depilação da pele do pescoço, uma incisão de aproximadamente 1 cm foi realizada no local. O tecido adiposo subcutâneo foi afastado e o músculo esternocleidomastóideo rebatido, possibilitando o acesso à carótida. A artéria foi exposta e isolada dos tecidos adjacentes. O cateter de polietileno foi inserido na aorta (3,5 cm a partir da incisão) e, utilizando-se uma linha de sutura, foi amarrado à artéria acima e imediatamente abaixo do local da incisão. Após a depilação da região cervical dorsal do rato, uma incisão de aproximadamente 0,5 cm foi realizada no local. Utilizando-se um trocater, o cateter foi passado subcutaneamente, exteriorizado na região cervical e, na sequência, foi afixado à pele do animal com uma linha de sutura. Esse procedimento permitiu o registro da pressão arterial, mesmo estando o animal se movimentando livremente ou realizando exercício.

O cateter foi lavado e preenchido diariamente com solução de heparina.

Os animais novamente receberam injeções de analgésico e antibiótico e tiveram 48 horas de recuperação até o início dos experimentos. Os ratos também tiveram acesso *ad libitum* a uma dieta pastosa feita a partir de água e farelos de ração, facilitando a ingestão de alimentos no período pós-cirúrgico. A dieta pastosa foi ofertada simultaneamente à dieta convencional.

3.5 Injeções nos núcleos ventromediais hipotalâmicos

As injeções de 200 η L de solução de metilatropina ($2,5 \times 10^{-2}$ M) (Sigma, St. Louis, EUA) ou de salina (NaCl 0,15 M) foram realizadas usando-se uma microseringa (Hamilton Company, Nevada, EUA) de 1,0 μ L conectada com PE10 às cânulas cerebrais. As injeções foram realizadas durante 1 min em cada cânula para evitar variações na pressão hidrostática dos núcleos hipotalâmicos. Em todos os experimentos, as injeções foram realizadas 10 min antes do início do exercício [40].

A dose do antagonista colinérgico injetada foi a mesma utilizada por Iguchi et al. [23], os quais demonstraram que a injeção de sulfato de atropina 5×10^{-9} mol, bilateralmente nos VMH, bloqueou o aumento da concentração plasmática de glicose induzido pela estimulação colinérgica do hipocampo dorsal. A injeção de atropina 5×10^{-8} mol não produziu efeitos adicionais, enquanto 5×10^{-10} mol bloqueou parcialmente a resposta hiperglicêmica.

3.6 Variáveis medidas

3.6.1 Temperatura da pele da cauda

A temperatura da pele da cauda do rato foi medida utilizando-se um termosensor (Yellow Spring Instruments - YSI, Dayton, EUA, modelo 409B) acoplado a um teletermômetro de temperatura (YSI, modelo 400A). O sensor foi posicionado na porção lateral a 2 cm da base da cauda utilizando-se um esparadrapo impermeável.

A posição do termosensor foi escolhida a partir dos resultados descritos por Young e Dawson [115]. Quanto mais próximo da base da cauda o sensor for posicionado, maior é a sensibilidade da medida da temperatura da pele às alterações do fluxo sanguíneo no local. Além disso, por meio da técnica de angiografia, foi demonstrado que o retorno venoso a partir da cauda, quando os vasos estão dilatados, é realizado principalmente pelas veias laterais [115].

3.6.2 Temperatura intra-peritoneal

Sensores de temperatura (Mini-Mitter, Sunriver, EUA, modelo TR3000 VM-FM), pesando 2,2 g e contendo uma bateria de lítio (3-V lithium), foram utilizados para a medição da temperatura intra-peritoneal. As baterias foram trocadas e, na seqüência, os sensores foram vedados com parafina inerte. Para a calibração dos sensores, estes foram colocados em um Becker preenchido com 50 mL de água a 45° C e, à medida que a temperatura da água diminuía, as freqüências emitidas pelo sensor foram registradas. Quando a diferença da freqüência emitida pelo sensor e os valores fornecidos pelo fabricante era superior a 5%, a calibragem armazenada no software foi alterada.

O sensor de temperatura é um capacitor oscilatório de resistência simples, cujo valor da resistência é dependente da temperatura. A freqüência de saída dos pulsos digitais provenientes dos sensores está entre 297 - 713 KHz. Os pulsos foram captados por uma placa receptora AM (modelo RA 1000 TH, Mini Mitter Co.) posicionada próxima ao rato, sendo enviados na seqüência para um decodificador. Este repassou as informações para um software (Vital View, Mini-Mitter) que armazenou os dados.

A temperatura intra-peritoneal foi considerada um índice da temperatura corporal interna.

3.6.3 Pressão arterial pulsátil

A pressão arterial pulsátil foi medida continuamente durante o exercício por meio de um cateter implantado na aorta e conectado a um transdutor de pressão que, por sua vez, foi conectado a um sistema de aquisição de dados (Biopac System Inc., modelo MP100ACE, Santa Bárbara, EUA). O transdutor de pressão foi calibrado previamente a todos os experimentos e foi posicionado ao lado da esteira.

As variáveis cardiovasculares - frequência cardíaca e pressão arterial média, sistólica e diastólica - foram calculadas a partir do registro da pressão arterial pulsátil via software (Acknowledge 37.0).

3.6.4 Tempo total de exercício

O tempo total de exercício (TTE), em minutos, correspondeu ao intervalo entre o início do exercício e o momento em que os ratos entraram em fadiga. A medida utilizando-se realizada por um cronômetro com precisão de 0,01 segundos. O critério para determinar a fadiga foi a permanência do animal sobre a grade de estímulo elétrico (0,5 mV e 0,5 mA) durante 10 segundos, o que demonstrou a incapacidade de manter a intensidade de exercício pré-estabelecida [40, 41, 42]. A pessoa responsável pela determinação do momento da fadiga não teve acesso, em momento algum do experimento, ao tempo de exercício realizado pelo animal e também não tinha consciência de qual substância fora injetada.

3.7 Variáveis de controle

3.7.1 Peso dos animais

Os animais foram pesados diariamente e a variação do peso corporal representou um índice do estado de saúde e de hidratação dos ratos durante os experimentos.

3.7.2 Temperatura ambiente

A temperatura seca da sala onde foram realizados os experimentos foi medida por meio de um termômetro de mercúrio. Para a medida da temperatura úmida, uma gaze embebida com água destilada foi colocada ao redor do bulbo de mercúrio de um outro termômetro.

3.7.3 Temperatura no interior da esteira

A temperatura seca no interior da esteira foi medida a cada minuto de exercício, utilizando-se uma sonda (YSI, modelo 401) posicionada na parte superior da esteira e acoplada a um teletermômetro de temperatura. Nos experimentos com o registro das variáveis cardiovasculares, a sonda foi posicionada sobre a grade de choque, no final da esteira, para evitar o contato entre o fio da sonda e a conexão de PE50 utilizada para o registro da pressão arterial.

3.8 Variáveis calculadas

3.8.1 Índice de dissipação de calor (IDC)

O índice de dissipação de calor, proposto por Székely [93], varia de 0 (vasoconstrição máxima; temperatura da pele = temperatura ambiente) a 1 (vasodilatação máxima; temperatura da pele = temperatura interna). O índice tem sido utilizado para estimar a dissipação de calor pela cauda dos ratos [82].

$$IDC = \frac{T_{CAUDA} - T_{SECA}}{T_{INTERNA} - T_{SECA}} \quad (3.1)$$

3.8.2 Calor acumulado e Taxa de acúmulo de calor

O acúmulo de calor nos ratos foi calculado por meio da fórmula proposta por Gordon [15]:

$$AC = P \cdot CE \cdot \Delta T_{INTERNA} \quad (3.2)$$

sendo:

AC = acúmulo de calor (cal);

CE = calor específico dos tecidos ($0,82586 \text{ cal.g}^{-1}.\text{°C}^{-1}$);

$\Delta T_{INTERNA}$ = variação da temperatura interna entre o fim e o início do intervalo de tempo pré-estabelecido ($^{\circ} \text{C}$);

P = peso dos animais (g);

A taxa de acúmulo de calor foi calculada dividindo-se o acúmulo de calor pelo intervalo de tempo analisado.

$$TAC = \frac{P \cdot CE \cdot \Delta T_{INTERNA}}{Tempo} \quad (3.3)$$

sendo:

T = intervalo da medida (min);

3.9 Sacrifício e perfusão dos animais

Após o último dia de experimentos, os animais foram submetidos a anestesia profunda com pentobarbital sódico (75 mg/kg de peso corporal, via intra-peritoneal). Em seguida, foi realizada uma incisão na região ventral para a retirada do sensor de temperatura e o local do implante foi avaliado. Não foram verificados sinais de infecção, de inflamação e nem a existência de aderência entre as vísceras e o sensor.

Na seqüência, a área da incisão foi ampliada, os órgãos abdominais foram rebatidos e o diafragma foi seccionado, permitindo o acesso ao coração. Uma agulha foi inserida na aorta via ventrículo esquerdo e o animal foi perfundido com aproximadamente 15 mL de salina. Assim que o rato assumiu uma aparência clara, a perfusão de salina foi interrompida e foi perfundida solução de formolaldeído 4%. O cérebro foi retirado e mantido em formolaldeído até o momento da verificação da posição das cânulas.

3.10 Verificação da posição das cânulas

O cérebro dos animais foi seccionado, em fatias de 30 μm , a -13°C , por meio de um micrótomo de congelamento (Microm HM 505N) e, na seqüência, as fatias foram fixadas à lâminas gelatinizadas. As lâminas foram 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 acídicos do citoplasma neuronal tais como ribossomos ricos em RNA, os núcleos e nucléolos de células nervosas.

Antes de serem mergulhadas em solução de violeta cresil, as lâminas foram hidratadas em água destilada. Após o procedimento de coloração, as lâminas foram seguidamente mergulhadas em água destilada, em solução de etanol a 70% e em etanol 100% para retirar o excesso de corante e desidratar os tecidos. E, por fim, as lâminas foram mantidas em xilol para tornar

o corte translúcido, facilitando a visualização no microscópio. A localização da cânula foi determinada por comparação com o atlas de Paxinos e Watson [68].

Tabela 3.1: Protocolo para a coloração dos tecidos cerebrais com cresil violeta

	Substância	Tempo de imersão (min)
1.	Água destilada	2
2.	Cresil violeta 0,13%	2
3.	Água destilada	4
4.	Álcool etílico 70%	2
5.	Álcool etílico 100%	2
6.	Xilol	2

Os experimentos nos quais as cânulas estavam posicionadas fora dos núcleos ventromediais hipotalâmicos foram utilizados como controles que possibilitaram verificar a participação dos receptores colinérgicos muscarínicos, presentes em outras áreas cerebrais, nos ajustes termorregulatórios e cardiovasculares durante o exercício.

3.11 Análise estatística

Os dados foram expressos como média \pm erro padrão da média. A análise estatística das variáveis termorregulatórias (temperatura interna, da cauda e índice de dissipação de calor) e das cardiovasculares (pressão arterial média, diastólica, sistólica e frequência cardíaca) foi realizada por meio de 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 as duas situações experimentais, os dados foram submetidos ao teste *post-hoc* das diferenças mínimas significativas.

Os dados foram analisados até o 12^o minuto, momento em que o rato com o menor desempenho interrompeu o exercício. Para a análise dos dados referentes as variáveis cardiovasculares foram utilizados os animais cujas medidas foram realizadas nas duas situações experimentais. Os dados referentes a todos experimentos estão mostrados no Anexo II e o comportamento dos ajustes é semelhante quando comparado com o dos dados apresentados.

O tempo total de exercício e a taxa de acúmulo de calor foram comparados entre as

duas situações experimentais por teste t de Student para amostras dependentes. O nível de significância adotado foi $p \leq 0,05$.

Capítulo 4

Resultados

4.1 Localização das cânulas crônicas - Primeiro grupo

O painel superior da figura 4.1 representa um esquema com a localização das cânulas na região do hipotálamo. Nos experimentos referentes aos VMH (círculos pretos), as cânulas estavam bilateralmente posicionadas nas regiões dorsomedial e central dos núcleos. De maneira inesperada, os experimentos em que as cânulas foram posicionadas ventralmente aos VMH, na região do Arc (círculos cinzas), sugeriram a existência de uma outra população de neurônios colinérgicos nessa região do hipotálamo e foram analisados como um grupo específico.

Nos experimentos representados pelos círculos brancos, as cânulas não foram bilateralmente posicionadas nos VMH ou na região do Arc. Em alguns desses experimentos, cânulas atravessaram a base do hipotálamo ou atingiram o terceiro ventrículo, o que impede a identificação dos núcleos para onde as injeções difundiram. Os resultados dos experimentos em que as cânulas estavam entupidas serão apresentados em conjunto com os dados em que as cânulas não estavam localizadas nos VMH ou na região do Arc.

O painel inferior da figura 4.1 mostra as fotos das lâminas com os cortes dos tecidos cerebrais. A foto da esquerda mostra as cânulas posicionadas bilateralmente nos VMH. Enquanto na foto da direita, está demonstrada uma cânula que atravessou o VMH e está posicionada imediatamente acima do Arc. É importante ressaltar que a outra cânula não aparece na foto.

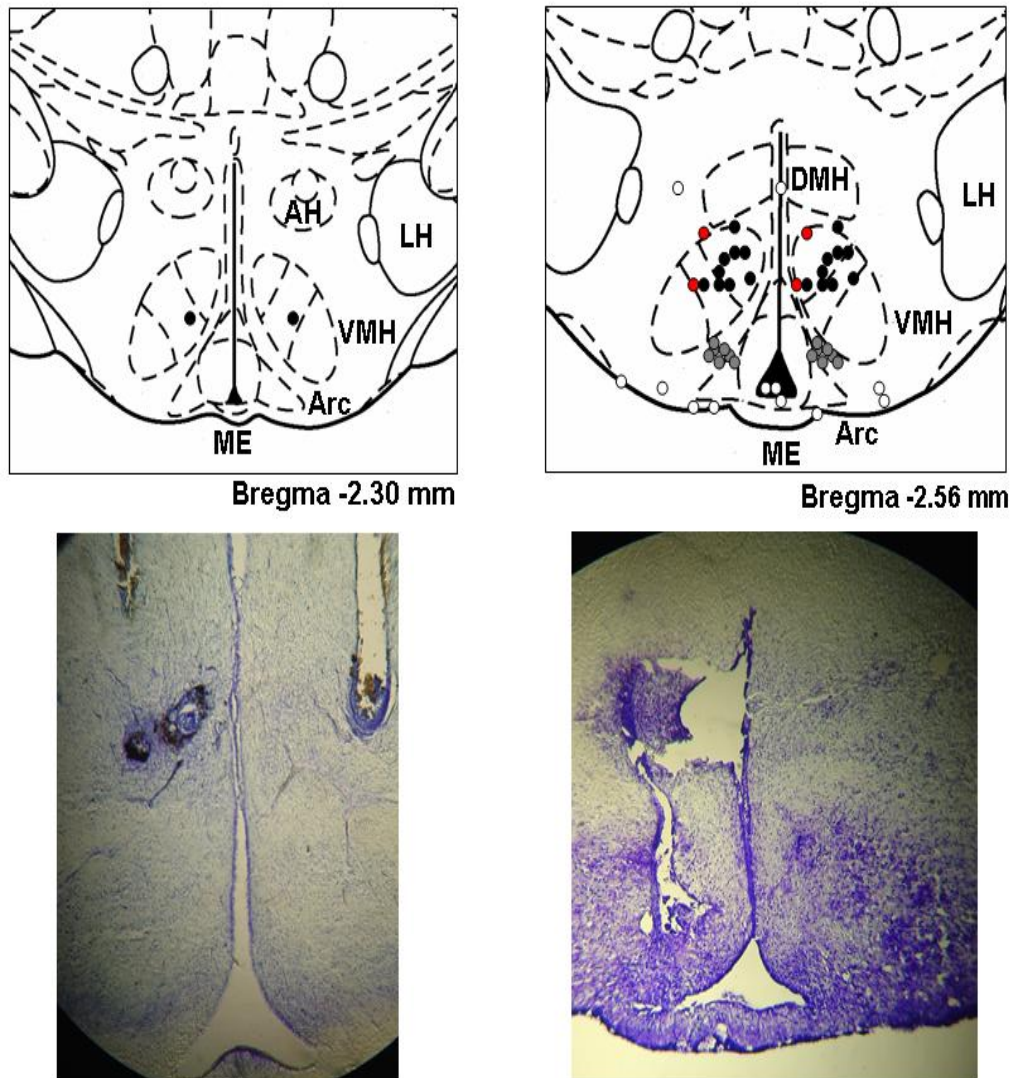


Figura 4.1: Localização das cânulas crônicas na região do hipotálamo (painel superior). Os círculos representam a localização da extremidade inferior das cânulas. Círculos pretos - injeções nos VMH; Círculos cinzas - injeções na região do arqueado; Círculos brancos - injeções em outras áreas hipotalâmicas; Círculos vermelhos - cânulas que entupiram durante os experimentos. AH: hipotálamo anterior; DMH: núcleo dorsomedial hipotalâmico; LH: hipotálamo lateral; ME: eminência mediana. O painel inferior mostra as fotos das lâminas com os cortes dos tecidos cerebrais, após a coloração com cresil violeta.

4.2 Tempo total de exercício

A figura 4.2 apresenta os valores médios do tempo total de exercício após as injeções de salina 0,15 M ou de metilatropina $2,5 \times 10^{-2}$ M nos VMH. A injeção de metilatropina realizada bilateralmente nos VMH antecipou o momento da fadiga em 37,3% (n=9; $p \leq 0,001$). Os ratos controles correram $33,46 \pm 3,39$ min, enquanto os ratos injetados com metilatropina correram $21,00 \pm 2,87$ min.

Nos animais em que as cânulas guias foram colocadas fora dos VMH, a injeção de metilatropina não alterou o desempenho dos ratos ($22,67 \pm 2,25$ min ATR vs. $23,97 \pm 2,25$ min SAL; n=14; $p=0,566$). Dentre esses animais, 7 foram injetados bilateralmente com metilatropina na região do Arc e verificou-se que o bloqueio dos receptores muscarínicos presentes nesse núcleo não modificou o tempo total de exercício ($21,78 \pm 4,15$ min ATR vs. $24,22 \pm 3,54$ min SAL; $p=0,490$). Nos ratos em que as cânulas crônicas não foram bilateralmente posicionadas nos VMH ou nos Arc, a injeção de metilatropina também não alterou o desempenho dos ratos ($23,56 \pm 2,13$ min ATR vs. $23,71 \pm 2,46$ min SAL; n=7; $p=0,962$; figura 4.3).

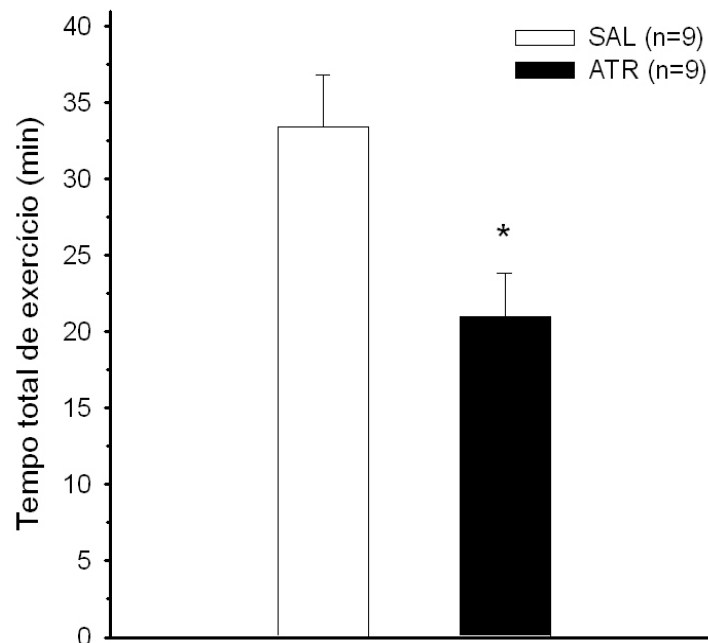


Figura 4.2: Efeito da injeção bilateral (200 μ L) de salina 0,15 M ou de metilatropina $2,5 \times 10^{-2}$ M nos núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre o tempo total de exercício em ratos. Os dados expressam média \pm EPM. * = $p \leq 0,05$ em comparação à situação salina.

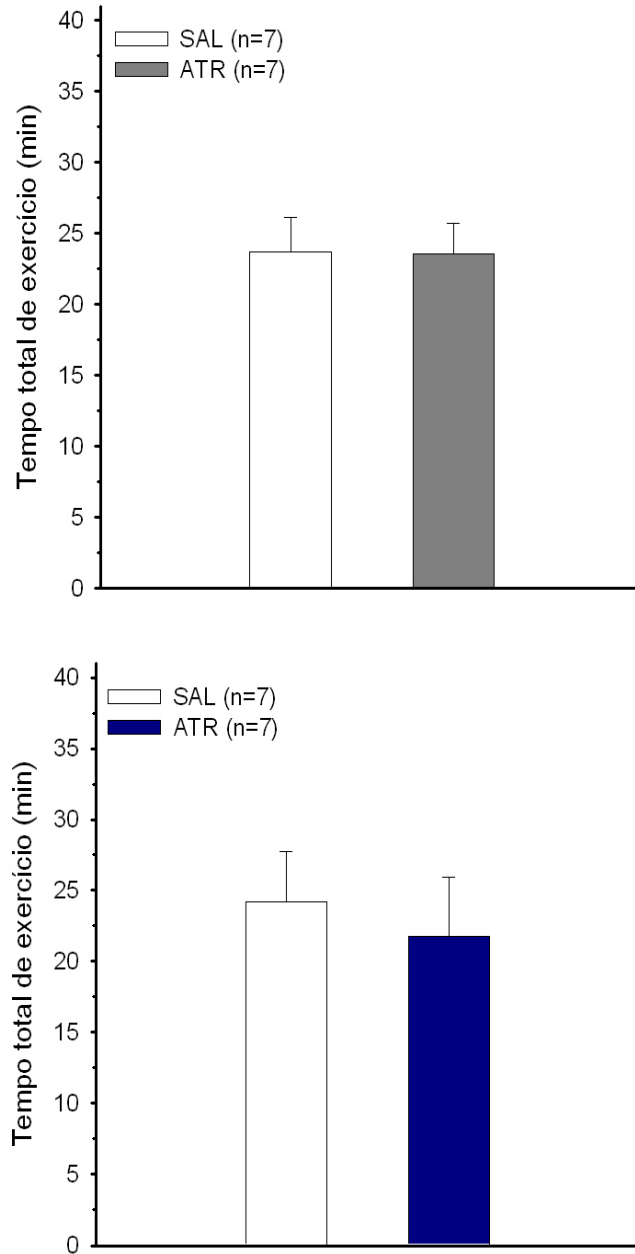


Figura 4.3: Efeito da injeção bilateral (200 η L) de salina 0,15 M ou de metilatropina $2,5 \times 10^{-2}$ M na região do núcleo arqueado (painel superior) e fora dos núcleos ventromedias hipotalâmicos e do núcleo arqueado (painel inferior) sobre o tempo total de exercício em ratos. Os dados expressam média \pm EPM.

A tabela 4.1 apresenta o tempo total de exercício dos ratos durante o primeiro experimento após as injeções de salina 0,15 M ou de metilatropina $2,5 \times 10^{-2}$ M.

Os ratos injetados com salina nos VMH apresentaram maior tempo total de exercício em comparação aos ratos que foram injetados com salina em áreas cerebrais fora dos VMH e da região do Arc ($33,46 \pm 3,39$ min SAL VMH vs. $23,97 \pm 2,25$ min SAL Outras; $p=0,044$). Não foram verificadas diferenças no desempenho dos ratos após as injeções de salina nos VMH e na região do Arc ($33,46 \pm 3,39$ min SAL VMH vs. $24,22 \pm 3,54$ min SAL Arc; $p=0,081$).

No entanto, quando foram selecionados os 4 ratos que receberam as cânulas nos VMH e que apresentaram o menor desempenho, não foram verificadas diferenças no tempo total de exercício entre as injeções de salina nas diferentes áreas hipotalâmicas ($24,73 \pm 1,69$ min SAL VMH vs. $24,22 \pm 3,54$ min SAL Arc vs. $23,97 \pm 2,25$ SAL Outras). Contudo, a redução do tempo total de exercício causada pela metilatropina foi observada somente após a injeção nos VMH, indicando um efeito específico do antagonista colinérgico nesses núcleos. Além disso, a redução percentual do desempenho nos 4 ratos que correram menos não foi diferente dos valores obtidos nos 5 ratos com maior tempo de exercício ($34,1 \pm 6,7\%$ menor desempenho vs. $39,5 \pm 8,3\%$ maior desempenho), sugerindo que o efeito do bloqueio colinérgico foi independente da capacidade aeróbica dos ratos.

Tabela 4.1: Tempo total de exercício no primeiro experimento

	VMH (n=5) Maior TTE	VMH (n=4) Menor TTE	Arc (n=7)	Outras (n=7)
Salina (min)	$40,5 \pm 3,5$	$24,7 \pm 1,7$	$24,2 \pm 3,5$	$23,7 \pm 2,5$
Metilatropina (min)	$24,6 \pm 4,4^*$	$16,5 \pm 2,3^*$	$21,8 \pm 4,2$	$23,6 \pm 2,1$
Redução (%)	39,5	34,1	10,7	0,7

Os dados expressam média \pm EPM. * $p \leq 0,05$ em comparação à situação salina.

4.3 Temperaturas interna e da pele da cauda dos animais injetados com metilatropina nos VMH

A figura 4.4 apresenta os valores médios das variações das temperaturas interna e da cauda, durante o exercício até a fadiga, após a injeção de salina 0,15 M ou de metilatropina $2,5 \times 10^{-2}$ M nos VMH. Ao final dos 60 minutos de repouso, imediatamente antes das injeções nos VMH, a temperatura interna não foi diferente nas duas situações experimentais ($36,64 \pm 0,29^\circ \text{C}$ metilatropina vs. $36,68 \pm 0,37^\circ \text{C}$ salina; $p=0,728$).

O exercício aumentou a temperatura interna que permaneceu elevada até o momento da fadiga. Nos ratos controles, a temperatura interna aumentou a partir do 4º minuto de exercício ($36,96 \pm 0,38^\circ \text{C}$ aos 4 min. vs. $36,81 \pm 0,40^\circ \text{C}$ aos 0 min.; $p \leq 0,05$), enquanto nos animais injetados com metilatropina, o aumento foi observado após o 3º minuto de exercício ($36,78 \pm 0,32^\circ \text{C}$ aos 3 min. vs. $36,61 \pm 0,33^\circ \text{C}$ aos 0 min.; $p \leq 0,05$). A variação da temperatura interna foi maior a partir do 6º até o 12º minuto de exercício na situação metilatropina ($1,07 \pm 0,13^\circ \text{C}$ ATR vs. $0,71 \pm 0,13^\circ \text{C}$ SAL; aos 12 min.; $p \leq 0,05$). No momento da fadiga, não foram verificadas diferenças na variação da temperatura interna entre as duas situações experimentais ($1,24 \pm 0,28^\circ \text{C}$ ATR vs. $1,16 \pm 0,46^\circ \text{C}$ SAL).

O exercício também aumentou a temperatura da cauda que permaneceu elevada até o momento da fadiga. Após a injeção de salina, a temperatura da pele da cauda aumentou a partir do 6º minuto de exercício ($25,18 \pm 0,76^\circ \text{C}$ aos 6 min. vs. $23,90 \pm 0,44^\circ \text{C}$ aos 0 min.; $p \leq 0,05$), enquanto nos animais injetados com metilatropina o aumento foi observado após o 8º minuto de exercício ($25,30 \pm 0,76^\circ \text{C}$ aos 8 min. vs. $23,85 \pm 0,55^\circ \text{C}$ aos 0 min.; $p \leq 0,05$). A variação da temperatura da pele da cauda foi menor nos 6º e 7º minutos de exercício na situação metilatropina ($-0,06 \pm 0,21^\circ \text{C}$ ATR. vs. $1,29 \pm 0,70^\circ \text{C}$ SAL; aos 6 min.; $p \leq 0,05$). Entretanto, no momento da fadiga, não foram verificadas diferenças entre as situações experimentais ($5,89 \pm 0,55^\circ \text{C}$ ATR vs. $6,54 \pm 0,38^\circ \text{C}$ SAL; aos 6 min.).

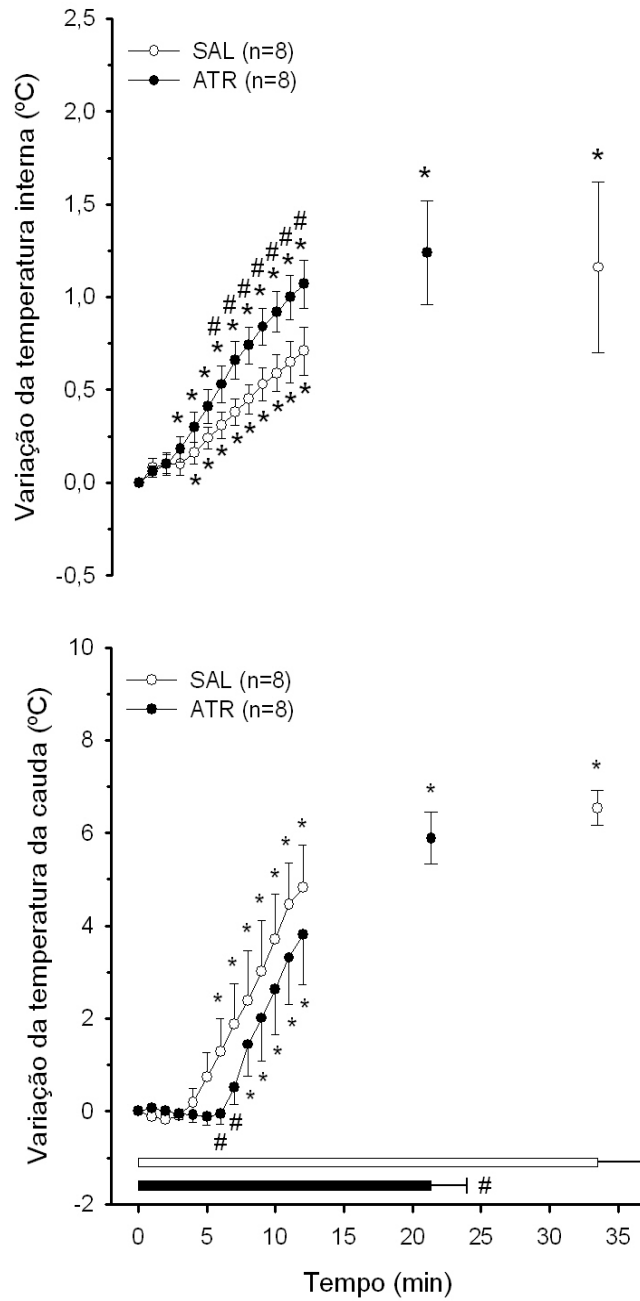


Figura 4.4: Efeito da injeção bilateral (200 η L) de salina 0,15 M ou de metilatropina $2,5 \times 10^{-2}$ M nos núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre a variação da temperatura interna (painel superior) e da cauda (painel inferior) em ratos. Os dados expressam média \pm EPM. * = $p \leq 0,05$ em comparação ao 0 min.; # = $p \leq 0,05$ em comparação à situação salina.

Quando os dados foram avaliados em função do percentual do tempo total de exercício (figura 4.5), a temperatura interna aumentou a partir de 40% do tempo total de exercício nos ratos controles ($37,52 \pm 0,32^\circ\text{C}$ aos 40% TTE min. vs. $36,81 \pm 0,37^\circ\text{C}$ início do exercício; $p \leq 0,05$), assim como nos animais injetados com metilatropina ($37,27 \pm 0,33^\circ\text{C}$ aos 40% TTE. vs. $36,61 \pm 0,31^\circ\text{C}$ início do exercício; $p \leq 0,05$). Não foram verificadas diferenças, durante o exercício, entre as duas situações experimentais ($37,72 \pm 0,31^\circ\text{C}$ ATR vs. $37,86 \pm 0,33^\circ\text{C}$ SAL; aos 80% TTE).

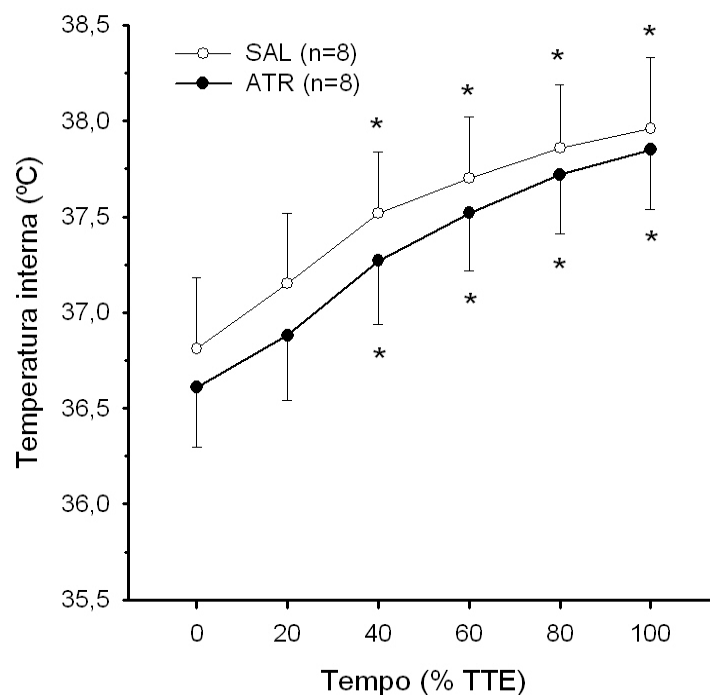


Figura 4.5: Efeito da injeção bilateral (200 ηL) de salina 0,15 M ou de metilatropina $2,5 \times 10^{-2}$ M realizada nos núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre a temperatura interna dos ratos em função do percentual do tempo total de exercício. Os dados expressam média \pm EPM. * = $p \leq 0,05$ em comparação ao 0%.

4.4 Temperaturas interna e da pele da cauda dos animais injetados com metilatropina na região do Arc

A figura 4.6 apresenta os valores médios das variações das temperaturas interna e da cauda dos ratos, durante o exercício até a fadiga, após a injeção de salina 0,15 M ou de metilatropina $2,5 \times 10^{-2}$ M na região do Arc. Ao final dos 60 minutos de repouso, imediatamente antes das injeções na região do Arc, a temperatura interna não foi diferente nas duas situações experimentais ($37,20 \pm 0,16^\circ \text{C}$ ATR vs. $37,10 \pm 0,23^\circ \text{C}$ SAL; $p=0,639$).

O exercício aumentou a temperatura interna que permaneceu elevada até o momento da fadiga. Nos ratos controles, a temperatura interna aumentou a partir do 5º minuto de exercício ($37,47 \pm 0,22^\circ \text{C}$ aos 5 min. vs. $37,30 \pm 0,21^\circ \text{C}$ aos 0min.; $p \leq 0,05$), enquanto nos animais injetados com metilatropina, o aumento foi observado após o 7º minuto de exercício ($37,39 \pm 0,29^\circ \text{C}$ aos 7 min. vs. $37,22 \pm 0,34^\circ \text{C}$ aos 0min.; $p \leq 0,05$). A variação da temperatura interna foi menor do 7º ao 12º minuto de exercício e no momento da fadiga na situação metilatropina ($0,78 \pm 0,12^\circ \text{C}$ ATR vs. $1,26 \pm 0,25^\circ \text{C}$ SAL; $p \leq 0,05$).

O exercício também aumentou a temperatura da cauda que permaneceu elevada até o momento da fadiga. Nos ratos controles, a temperatura da pele da cauda aumentou a partir do 6º minuto de exercício ($27,25 \pm 1,79^\circ \text{C}$ aos 6 min. vs. $24,83 \pm 0,47^\circ \text{C}$ aos 0 min.; $p \leq 0,05$), enquanto nos animais injetados com metilatropina, o aumento foi observado após o 4º minuto de exercício ($26,34 \pm 1,73^\circ \text{C}$ aos 4 min. vs. $24,37 \pm 0,51^\circ \text{C}$ aos 0 min. C; $p \leq 0,05$). A variação da temperatura da pele da cauda não foi diferente entre as situações experimentais durante os 12 minutos iniciais de exercício, assim como no momento da fadiga ($6,32 \pm 0,38^\circ \text{C}$ ATR vs. $6,98 \pm 0,58^\circ \text{C}$ SAL; $p=0,102$).

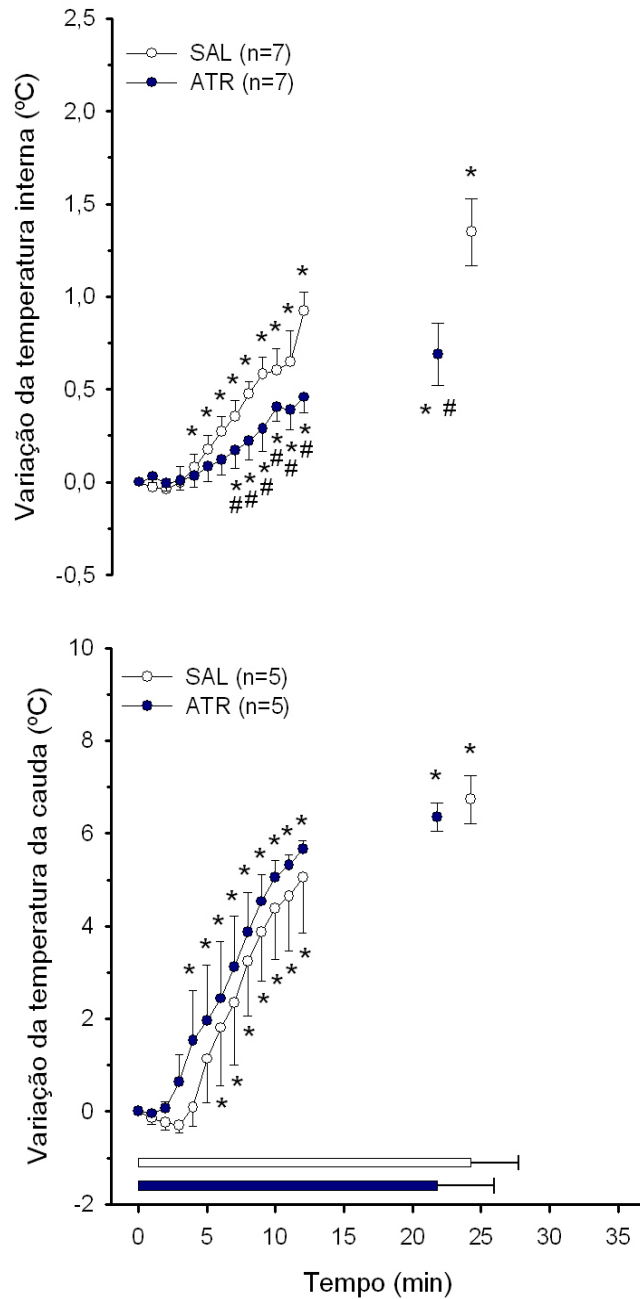


Figura 4.6: Efeito da injeção bilateral (200 η L) de salina 0,15 M ou de metilatropina $2,5 \times 10^{-2}$ M na região do núcleo arqueado sobre a variação da temperatura interna (painel superior) e da cauda (painel inferior) em ratos. Os dados expressam média \pm EPM. * = $p \leq 0,05$ em comparação ao 0 min.; # = $p \leq 0,05$ em comparação ao controle.

4.5 Temperaturas interna e da pele da cauda dos animais injetados com metilatropina fora dos VMH e do Arc

A figura 4.7 apresenta os valores médios das variações das temperaturas interna e da pele da cauda dos ratos, durante o exercício até a fadiga, após a injeção de salina 0,15M ou de metilatropina $2,5 \times 10^{-2}$ M fora dos VMH e do Arc. Ao final dos 60 minutos de repouso, imediatamente antes das injeções, a temperatura interna não foi diferente nas duas situações experimentais ($36,51 \pm 0,28^\circ$ C ATR vs. $36,57 \pm 0,22^\circ$ C SAL; $p=0,618$).

O exercício aumentou a temperatura interna que permaneceu elevada até a fadiga. Nos ratos controles, a temperatura interna aumentou a partir do 3º minuto de exercício ($37,12 \pm 0,20^\circ$ C aos 3 min. vs. $36,95 \pm 0,23^\circ$ C aos 0 min.; $p \leq 0,05$), enquanto nos animais injetados com metilatropina, o aumento foi observado após o 2º minuto de exercício ($37,25 \pm 0,25^\circ$ C aos 2 min. vs. $36,99 \pm 0,23^\circ$ C aos 0 min.; $p \leq 0,05$). A variação da temperatura interna não foi diferente nas duas situações experimentais durante os 12 minutos iniciais de exercício e no momento da fadiga ($0,90 \pm 0,35^\circ$ C ATR vs. $0,98 \pm 0,16^\circ$ C SAL).

O exercício também aumentou a temperatura da cauda que permaneceu elevada até o momento da fadiga. Nos ratos controles, a temperatura da pele da cauda aumentou a partir do 6º minuto de exercício ($25,87 \pm 0,89^\circ$ C aos 6 min. vs. $24,12 \pm 0,42^\circ$ C aos 0 min.; $p \leq 0,05$), enquanto nos animais injetados com metilatropina, o aumento foi observado após o 4º minuto de exercício ($25,25 \pm 0,61^\circ$ C aos 4 min. vs. $24,22 \pm 0,40^\circ$ C aos 0 min.; $p \leq 0,05$). A variação da temperatura da pele da cauda não foi diferente entre as situações experimentais durante os 12 minutos iniciais de exercício, assim como no momento da fadiga ($6,12 \pm 0,26^\circ$ C ATR vs. $5,59 \pm 0,57^\circ$ C SAL; $p=0,398$).

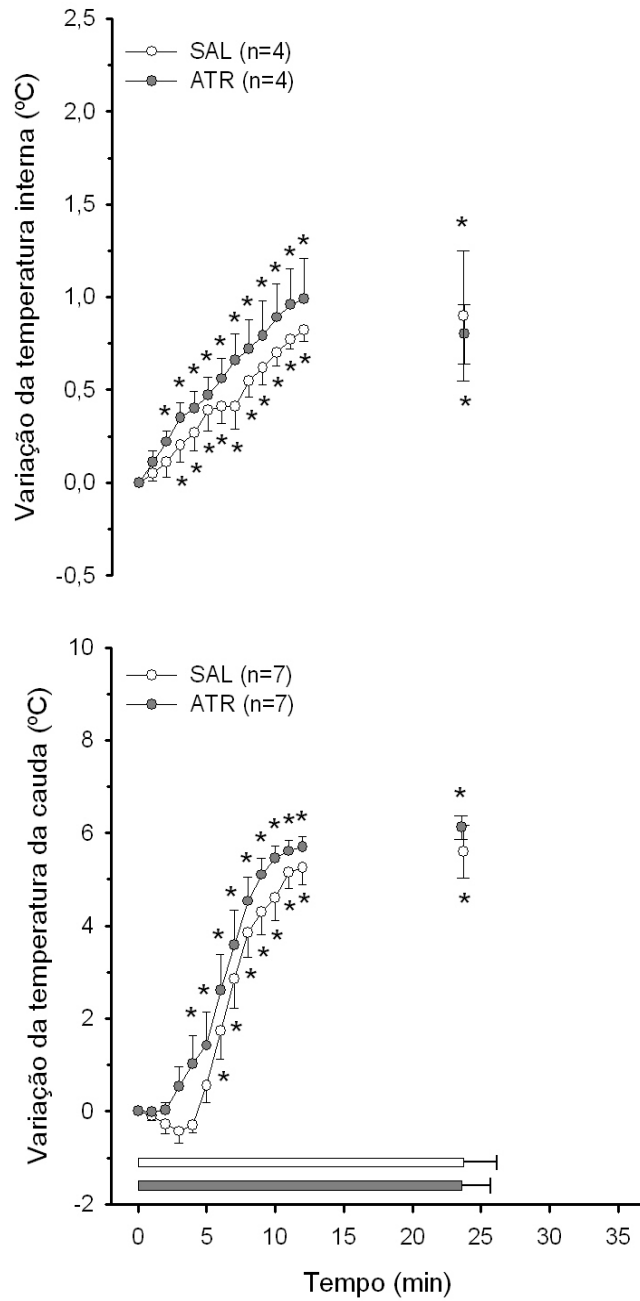


Figura 4.7: Efeito da injeção bilateral (200 η L) de salina 0,15 M ou de metilatropina $2,5 \times 10^{-2}$ M fora dos núcleos ventromediais hipotalâmicos e do núcleo arqueado sobre a variação da temperatura interna (painel superior) e da cauda (painel inferior) em ratos. Os dados expressam média \pm EPM. * = $p \leq 0,05$ em comparação ao 0 min.

4.6 Índice de dissipação de calor

A figura 4.8 apresenta os valores médios dos índices de dissipação de calor, durante o exercício até a fadiga, após a injeção de salina 0,15 M ou de metilatropina $2,5 \times 10^{-2}$ M nos VMH ou na região do Arc.

O exercício aumentou o índice de dissipação de calor em todas as situações experimentais, independentemente da substância injetada e do local onde foi realizada a injeção. O aumento da dissipação de calor, em relação ao pré-exercício, foi mantido até o momento da fadiga.

Nos ratos controles, em que as injeções foram realizadas nos VMH, o índice de dissipação de calor aumentou a partir do 6º minuto de exercício ($0,15 \pm 0,06$ aos 6 min. vs. $0,07 \pm 0,02$ aos 0 min.; $p \leq 0,05$). No entanto, nos animais injetados com metilatropina, o aumento foi observado após o 8º minuto de exercício ($0,18 \pm 0,05$ aos 8 min. vs. $0,07 \pm 0,02$ aos 0 min.; $p \leq 0,05$). O índice de dissipação de calor foi menor nos 6º e 7º minutos de exercício nos ratos injetados com metilatropina quando comparados com os controles. No momento da fadiga, não houve diferenças entre as situações experimentais ($0,43 \pm 0,03$ ATR vs. $0,50 \pm 0,03$ SAL; $p=0,102$).

Quando as injeções de salina foram realizadas na região do Arc, o índice de dissipação de calor aumentou a partir do 6º minuto de exercício ($0,23 \pm 0,09$ aos 6 min. vs. $0,10 \pm 0,02$ aos 0 min.; $p \leq 0,05$), enquanto nos animais injetados com metilatropina, o aumento foi observado após o 5º minuto de exercício ($0,20 \pm 0,10$ aos 5 min. vs. $0,07 \pm 0,01$ aos 0 min.; $p \leq 0,05$). O índice de dissipação de calor não foi diferente entre as situações experimentais nos 12 minutos iniciais de exercício e no momento da fadiga ($0,48 \pm 0,02$ ATR vs. $0,52 \pm 0,02$ SAL; $p=0,205$).

Nos ratos controles, em que as injeções foram realizadas fora dos VMH e do Arc, o índice de dissipação de calor aumentou a partir do 6º minuto de exercício ($0,16 \pm 0,08$ aos 6 min. vs. $0,06 \pm 0,02$ aos 0 min.; $p \leq 0,05$), assim como nos animais injetados com metilatropina ($0,21 \pm 0,172$ aos 6 min. vs. $0,06 \pm 0,02$ aos 0 min.; $p \leq 0,05$). O índice de dissipação de calor não foi diferente entre as situações experimentais nos 12 minutos iniciais de exercício e no momento da fadiga ($0,47 \pm 0,02$ ATR vs. $0,50 \pm 0,03$ SAL; $p=0,348$).

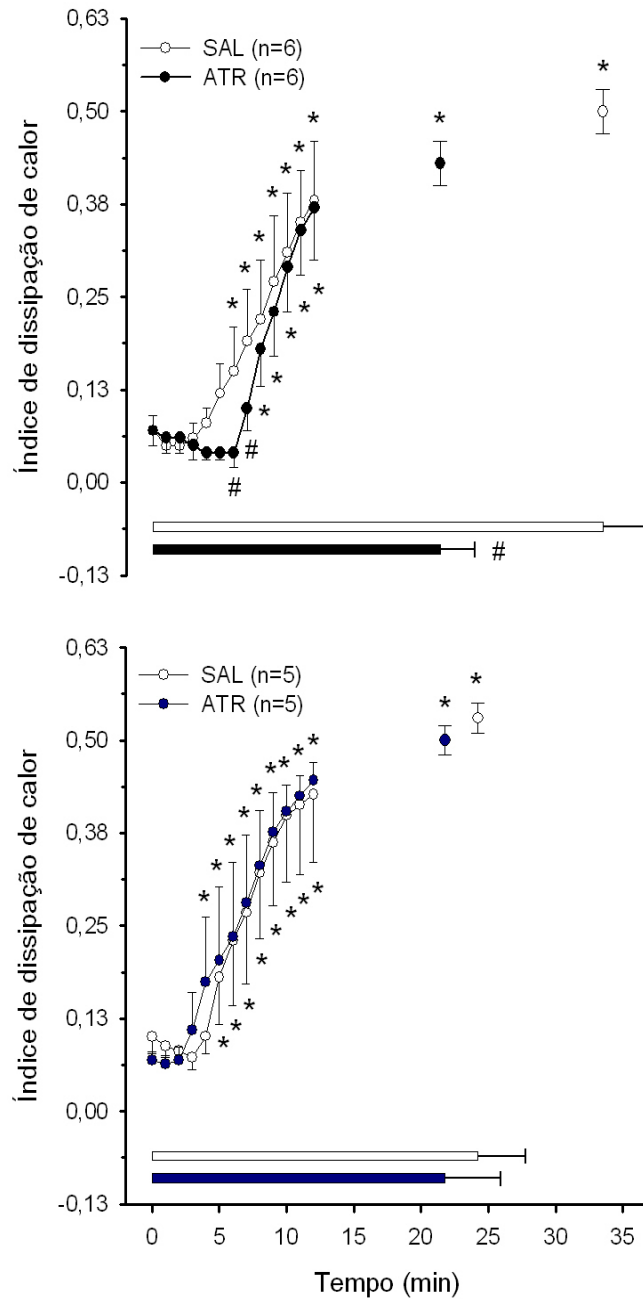


Figura 4.8: Efeito da injeção bilateral (200 η L) de salina 0,15 M ou de metilatropina $2,5 \times 10^{-2}$ M nos núcleos ventromediais hipotalâmicos (painel superior) e na região do núcleo arqueado (painel inferior) sobre o índice de dissipação de calor em ratos. Os dados expressam média \pm EPM. * = $p \leq 0,05$ em comparação ao 0 min; # = $p \leq 0,05$ em comparação à situação salina.

4.7 Taxa de acúmulo de calor

A figura 4.9 apresenta os valores médios da taxa de acúmulo de calor calculada no intervalo entre o início do exercício e o momento da fadiga, após a injeção de salina 0,15 M ou de metilatropina $2,5 \times 10^{-2}$ M.

A injeção de metilatropina realizada bilateralmente nos VMH aumentou a taxa de acúmulo de calor em 103,5% ($n=8$; $p \leq 0,05$). Os ratos controles acumularam $9,71 \pm 3,30$ cal/min, enquanto os ratos microinjetados com metilatropina $19,75 \pm 4,64$ cal/min. Além disso, a taxa de acúmulo de calor correlacionou-se negativamente com o tempo total de exercício ($r=-0,612$; $p \leq 0,05$).

Nos ratos que foram injetados bilateralmente com metilatropina na região do Arc verificou-se que o bloqueio das sinapses colinérgicas presentes nesse núcleo diminuiu a taxa de acúmulo de calor durante o exercício ($7,08 \pm 1,71$ cal/min ATR vs. $15,51 \pm 3,44$ cal/min SAL; $p \leq 0,05$). Conforme apresentado na figura 4.10, a taxa de acúmulo de calor não se correlacionou com o tempo total de exercício ($r=-0,315$; $p=0,273$).

Nos ratos em que as cânulas guias não foram bilateralmente posicionadas nos VMH ou na região do Arc, a microinjeção de metilatropina não alterou a taxa de acúmulo de calor ($8,53 \pm 3,84$ cal/min ATR vs. $9,56 \pm 1,47$ cal/min SAL; $n=4$; $p=0,721$).

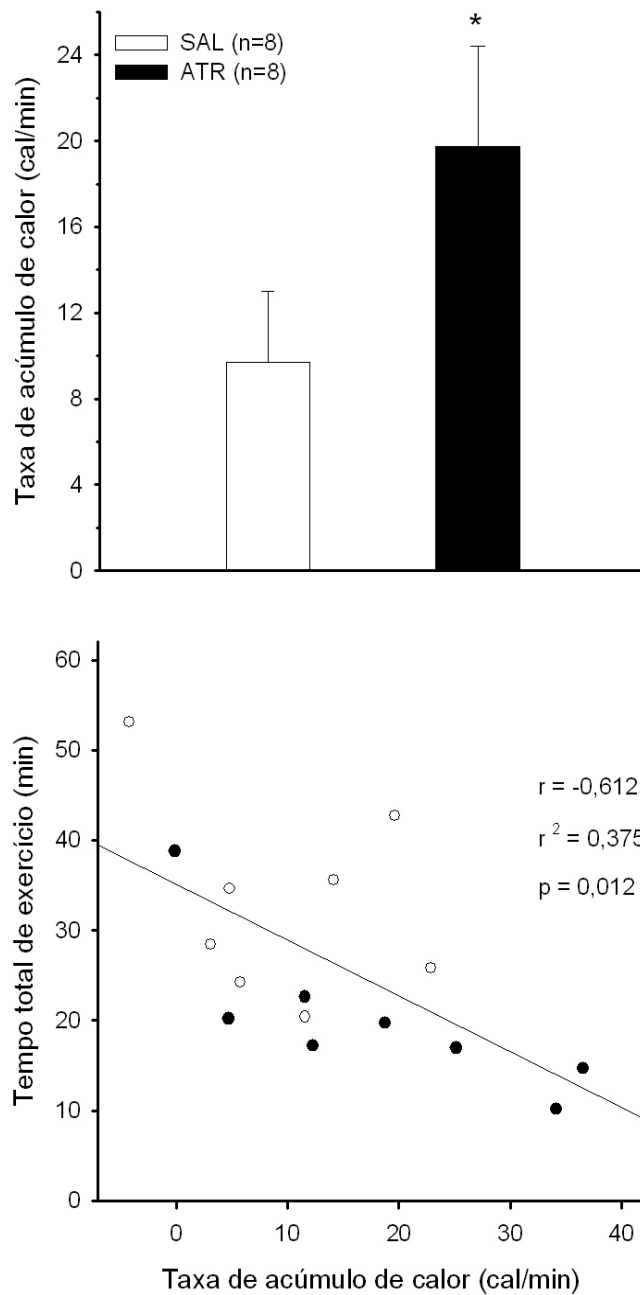


Figura 4.9: Efeito da injeção bilateral (200 η L) de salina 0,15 M ou de metilotropina $2,5 \times 10^{-2}$ M realizada nos núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre a taxa de acúmulo de calor (painel superior). Os dados expressam média \pm EPM. * = $p \leq 0,05$ em comparação à situação salina. O painel inferior mostra a correlação negativa entre a taxa de acúmulo de calor e o tempo total de exercício.

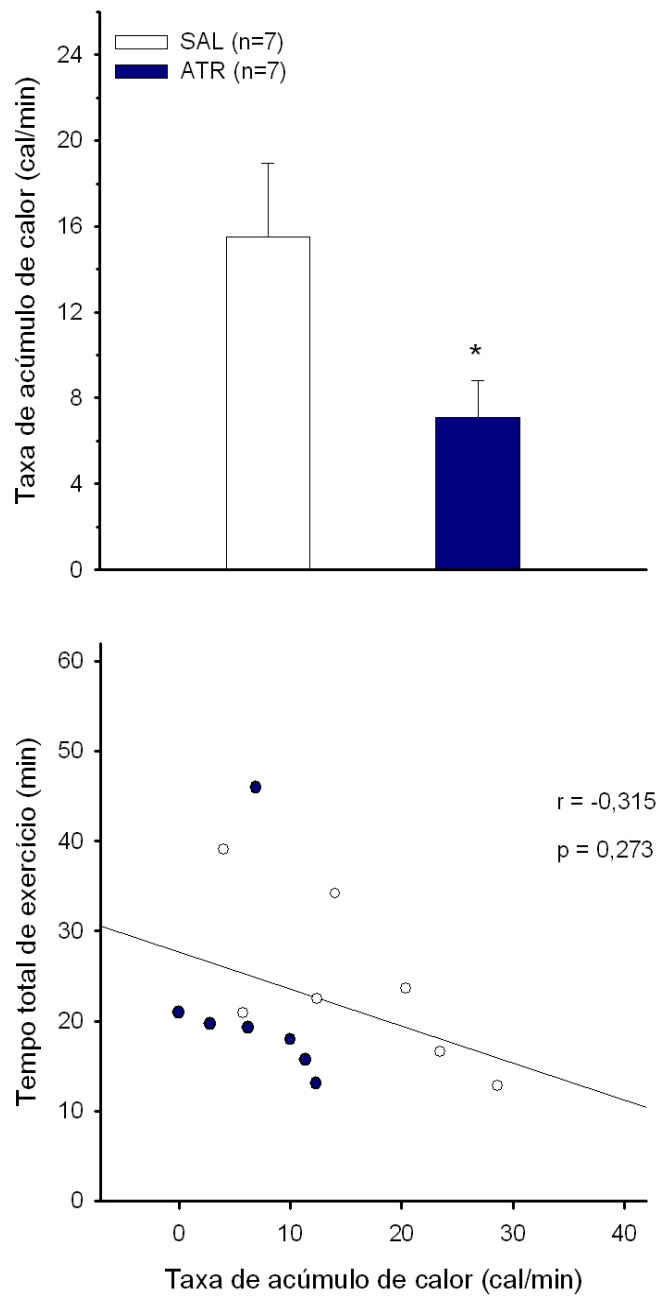


Figura 4.10: Efeito da injeção bilateral (200 η L) de salina 0,15 M ou de metilatropina $2,5 \times 10^{-2}$ M realizada na região do núcleo arqueado sobre a taxa de acúmulo de calor (painel superior). Os dados expressam média \pm EPM. * = $p \leq 0,05$ em comparação à situação salina. O painel inferior mostra a ausência de correlação entre a taxa de acúmulo de calor e o tempo total de exercício.

4.8 Calor acumulado nos ratos até o momento da vasodilatação da pele da cauda durante o exercício

A figura 4.11 apresenta o calor acumulado nos ratos até o momento em que ocorreu a vasodilatação da pele da cauda, durante o exercício, após a injeção de salina 0,15 M ou de metilatropina $2,5 \times 10^{-2}$ M.

A injeção de salina nas diferentes áreas cerebrais não modificou o acúmulo de calor induzido pelo exercício necessário para desencadear a vasodilatação cutânea (73, 24 \pm 15, 65 cal VMH vs. 88, 46 \pm 12, 74 cal Arc vs. 95, 62 \pm 18, 42 cal Outras).

Nos animais injetados com metilatropina nos VMH, o calor acumulado até o início da vasodilatação foi maior que nos ratos controles (186, 40 \pm 26, 28 cal ATR vs. 73, 24 \pm 15, 65 cal SAL; $p \leq 0,01$). Por outro lado, quando a injeção de metilatropina foi realizada na região do Arc, o acúmulo de calor até o início da vasodilatação foi menor que nos ratos controles (14, 42 \pm 16, 81 cal ATR vs. 88, 46 \pm 12, 74 cal SAL; $p \leq 0,01$). Nos ratos em que as cânulas guias foram posicionadas fora dos VMH ou dos Arc, a injeção de metilatropina não modificou a quantidade de calor acumulado até o início da vasodilatação (86, 16 \pm 12, 94 cal ATR vs. 95, 62 \pm 18, 42 cal SAL; $p = 0,727$).

Quando os efeitos do antagonista colinérgico nas diferentes áreas cerebrais foram comparados, a injeção de metilatropina nos VMH aumentou o acúmulo de calor necessário para desencadear a vasodilatação em comparação com as injeções realizadas nos Arc ou fora dos VMH e do Arc (186, 40 \pm 26, 28 cal VMH vs. 14, 42 \pm 16, 81 cal Arc vs. 86, 16 \pm 12, 94 cal Fora). Enquanto a injeção de metilatropina na região do Arc diminuiu o calor acumulado até o momento da vasodilatação cutânea em comparação com as injeções realizadas fora dos VMH e do Arc.

Conforme mostrado no painel inferior da figura 4.11, nos ratos em que as injeções foram realizadas bilateralmente nos VMH, o calor acumulado até o momento da vasodilatação cutânea da cauda correlacionou-se negativamente com o tempo total de exercício ($r = -0,641$, $p \leq 0,01$).

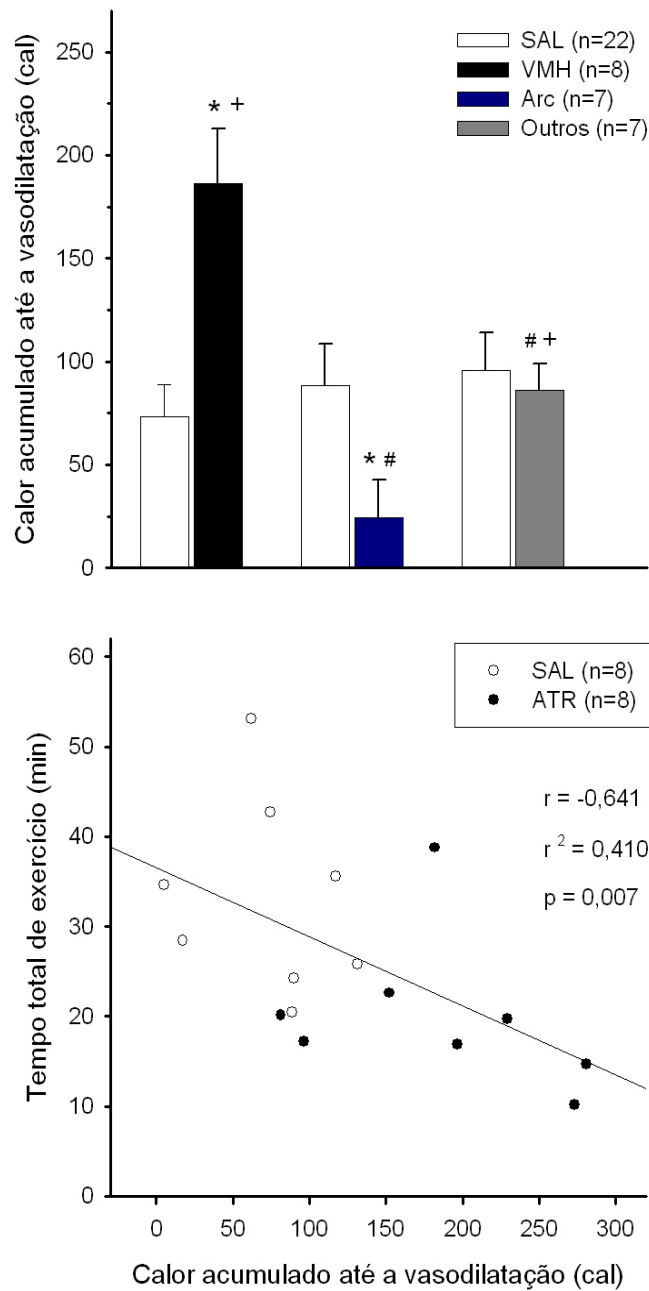


Figura 4.11: Efeito da injeção bilateral (200 η L) de salina 0,15 M ou de metilatropina $2,5 \times 10^{-2}$ M realizada em diferentes áreas cerebrais sobre o acúmulo de calor nos ratos até o momento da vasodilatação da pele da cauda (painel superior). Os dados expressam média \pm EPM.* = $p \leq 0,05$ em comparação à situação controle; # = $p \leq 0,05$ em comparação à injeção de metilatropina nos VMH; + = $p \leq 0,05$ em comparação à injeção de metilatropina na região do Arc. O painel inferior mostra a correlação negativa entre o acúmulo de calor até a vasodilatação e o tempo total de exercício nos ratos que foram injetados nos VMH.

4.9 Variáveis de controle

A tabela 4.2 apresenta as variáveis de controle medidas após as injeções de salina 0,15M (n=33) ou de metilatropina $2,5 \times 10^{-2}$ M (n=37) nos ratos utilizados no primeiro experimento. A temperatura da esteira aumentou durante o exercício em ambas as situações experimentais, enquanto a temperatura seca aumentou apenas após a injeção de metilatropina. A temperatura ambiente úmida não modificou durante o exercício. Além disso, não foram verificadas diferenças nas variáveis de controle entre as duas situações experimentais.

Tabela 4.2: Variáveis de controle no primeiro experimento

Variável	SAL		ATR	
	0 min	Fadiga	0 min	Fadiga
Peso dos animais (g)	293,9 ± 27,4	xxx	294,0 ± 28,8	xxx
Temp. esteira (° C)	23,18 ± 0,85	23,74 ± 0,91 *	23,21 ± 0,77	23,62 ± 0,77 *
Temp. seca (° C)	23,5 ± 1,0	23,5 ± 0,9	23,3 ± 0,9	23,6 ± 0,9 *
Temp. úmida (° C)	18,4 ± 1,2	18,3 ± 1,3	18,2 ± 1,2	18,1 ± 1,2

Os dados expressam média ± DP. * $p \leq 0,05$ em comparação com o início do exercício

4.10 Localização das cânulas crônicas - Segundo grupo de ratos

A figura 4.12 representa um esquema com a localização das cânulas na região do hipotálamo. Nos experimentos referentes aos VMH (círculos pretos), as cânulas estavam bilateralmente posicionadas imediatamente acima e nas regiões dorsomedial e central dos núcleos. Diferentemente do primeiro grupo de ratos, as cânulas apresentaram uma distribuição mais ampla na coordenada antero-posterior (de 2,30 mm a 3,30 mm posterior ao bregma).

Nos experimentos representados pelos círculos brancos, as cânulas não foram posicionadas bilateralmente nos VMH. Nesses experimentos, as cânulas estavam posicionadas ventralmente aos VMH, atravessaram a base do hipotálamo ou atingiram o terceiro ventrículo. Houve também experimentos em que as cânulas estavam localizadas em uma coordenada posterior (3,80 mm posterior ao bregma), onde não é possível observar a presença dos VMH.

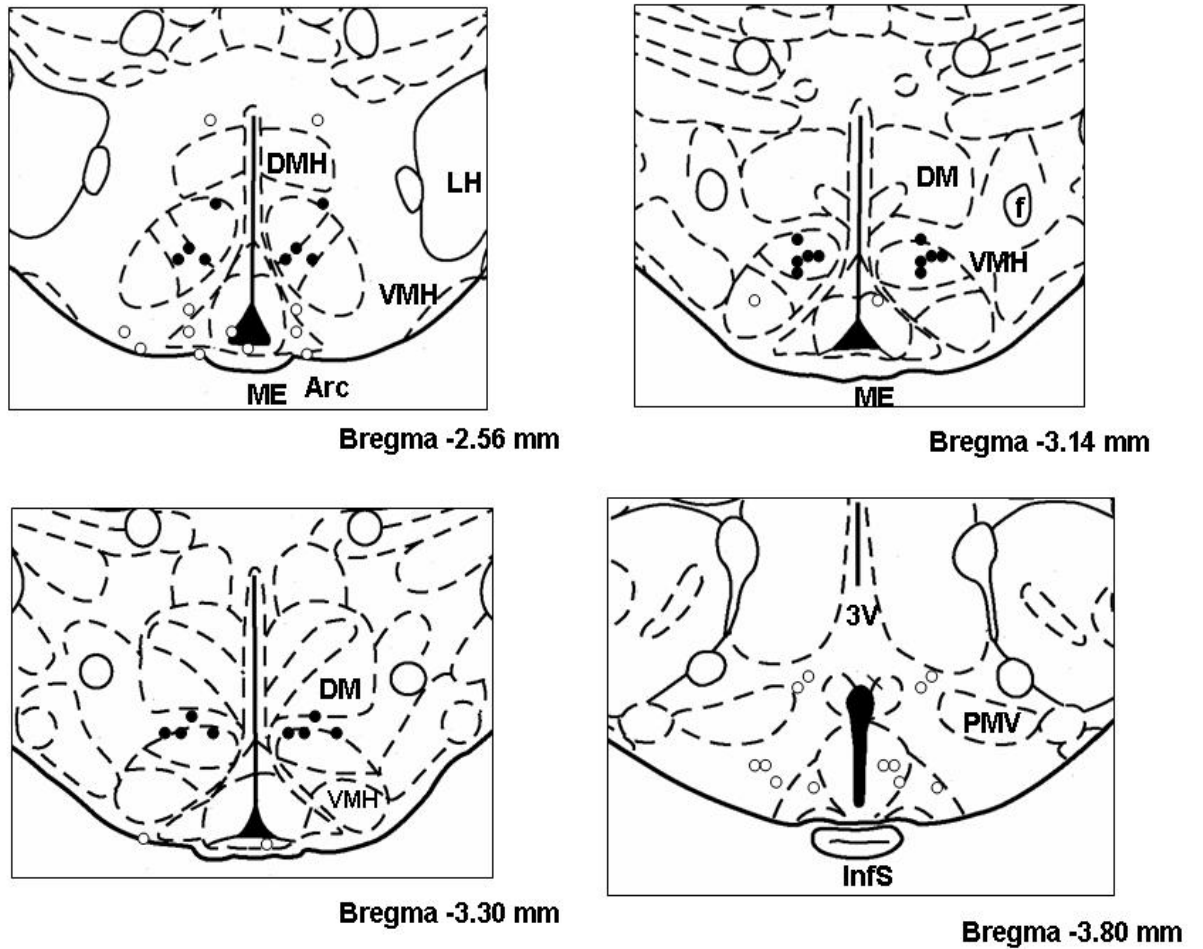


Figura 4.12: Localização das cânulas crônicas na região do hipotálamo. Os círculos representam a localização da extremidade inferior das cânulas. Círculos pretos - injeções nos VMH; Círculos brancos - injeções em outras áreas hipotalâmicas. 3V: terceiro ventrículo; DM: hipotálamo dorsomedial; DMH: núcleo dorsomedial hipotalâmico; f: fórnix; InfS: tronco infundibular; LH: hipotálamo lateral; ME: eminência mediana; PMV: núcleo pré-mamilar ventral.

4.11 Tempo total de exercício

A figura 4.13 apresenta os valores médios do tempo total de exercício após as injeções de salina ou de metilatropina $2,5 \times 10^{-2} \text{M}$ nos VMH ou em outras áreas hipotalâmicas. A injeção de metilatropina realizada bilateralmente nos VMH antecipou o momento da fadiga em 30,1% ($n=7$; $p \leq 0,01$), reproduzindo os resultados obtidos no primeiro grupo de ratos. Os ratos injetados com salina correram $22,64 \pm 1,50$ min, enquanto os injetados com metilatropina correram $15,72 \pm 1,11$ min.

Nos animais em que as cânulas foram posicionadas fora dos VMH, o bloqueio dos receptores muscarínicos não alterou o desempenho dos ratos ($17,54 \pm 1,54$ min ATR - $n=14$ vs. $16,46 \pm 1,21$ min SAL - $n=8$; $p=0,670$).

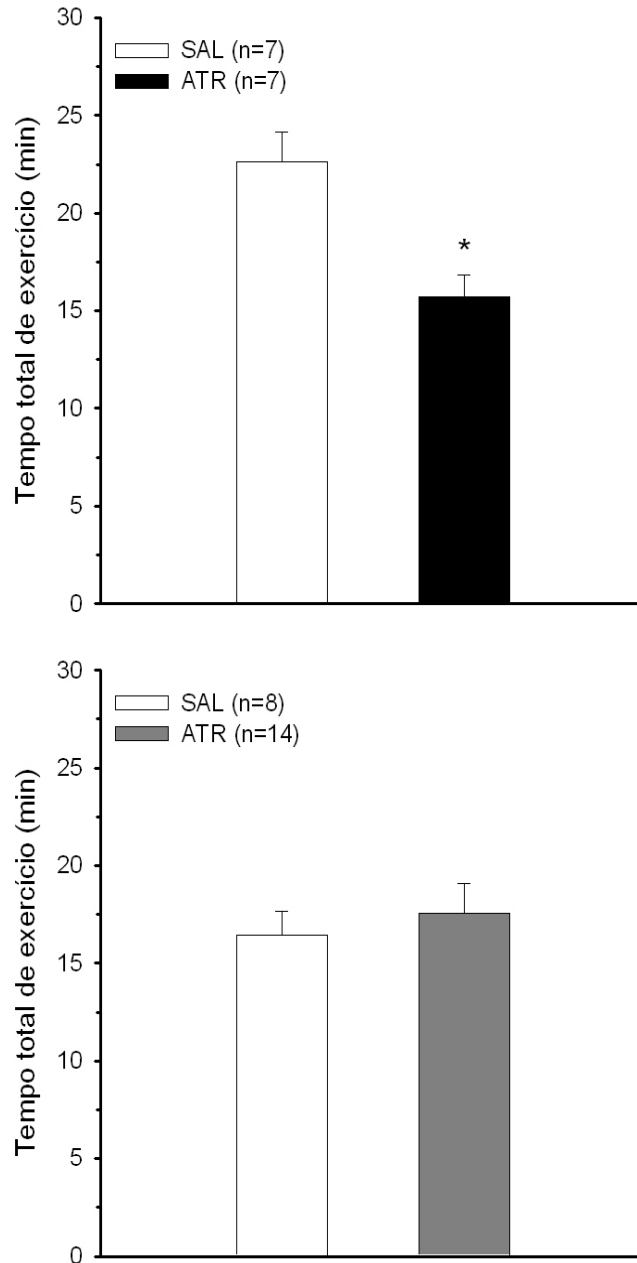


Figura 4.13: Efeito da injeção bilateral (200 η L) de salina 0,15 M ou de metilatropina $2,5 \times 10^{-2}$ M nos núcleos ventromediais hipotalâmicos (painel superior) e em outras áreas hipotalâmicas (painel inferior) sobre o tempo total de exercício em ratos. Os dados expressam média \pm EPM. * $p \leq 0,05$ em comparação à situação salina.

4.12 Pressão arterial média

A figura 4.14 apresenta os valores médios da pressão arterial média, durante o exercício até a fadiga, após a injeção de salina 0,15 M ou de metilatropina $2,5 \times 10^{-2}$ M nos VMH.

Ao final dos 60 minutos de repouso, imediatamente antes das injeções nos VMH, a pressão arterial média não foi diferente entre as duas situações experimentais ($109,4 \pm 3,8$ mmHg ATR vs. $100,6 \pm 5,0$ mmHg SAL; $p=0,728$). O manuseio, as injeções nos VMH e a transferência para a esteira aumentaram a pressão arterial sistólica dos ratos ($106,3 \pm 5,7$ mmHg aos 0 min. vs. $100,6 \pm 5,0$ mmHg aos -10 min. - SAL; $119,0 \pm 3,7$ mmHg aos 0 min. vs. $109,4 \pm 3,8$ mmHg aos -10 min. - ATR; $p \leq 0,05$).

O exercício aumentou a pressão arterial média que permaneceu elevada até o momento da fadiga. Nos ratos controles, a pressão arterial média aumentou a partir do 1º minuto de exercício ($115,3 \pm 4,5$ mmHg aos 1 min. vs. $106,3 \pm 5,7$ mmHg aos 0 min.; $p \leq 0,05$), assim como nos animais injetados com metilatropina ($127,1 \pm 3,3$ mmHg aos 1 min. vs. $119,0 \pm 3,7$ mmHg aos 0 min.; $p \leq 0,05$). O valor máximo da pressão arterial média foi observado no 9º min de exercício quando os ratos foram injetados com salina ($125,2 \pm 4,1$ mmHg) e, no 3º min de exercício, nos injetados com metilatropina ($132,6 \pm 3,9$) mmHg. O bloqueio dos receptores muscarínicos dos VMH não modificou o aumento da pressão arterial média induzido pelo exercício ($129,1 \pm 3,5$ mmHg ATR vs. $118,6 \pm 5,4$ mmHg - SAL; fadiga).

A área sob a curva da pressão arterial média, durante o exercício, também não foi diferente entre as situações experimentais (1548 ± 47 mmHg.min ATR vs. 1462 ± 48 mmHg.min SAL; $p=0,173$).

Quando os dados foram avaliados em função do percentual do tempo total de exercício, a pressão arterial média aumentou a partir de 20% do tempo total de exercício nos ratos controles ($123,4 \pm 4,2$ mmHg aos 20% TTE vs. $106,3 \pm 5,7$ mmHg início do exercício; $p \leq 0,05$) e nos animais injetados com metilatropina ($131,8 \pm 3,6$ mmHg aos 20% TTE vs. $119,0 \pm 3,7$ mmHg início do exercício; $p \leq 0,05$). Não foram verificadas diferenças na pressão arterial média em função do percentual do tempo total de exercício entre as duas situações experimentais ($127,5 \pm 4,6$ mmHg ATR vs. $118,0 \pm 6,0$ mmHg SAL; aos 80% TTE).

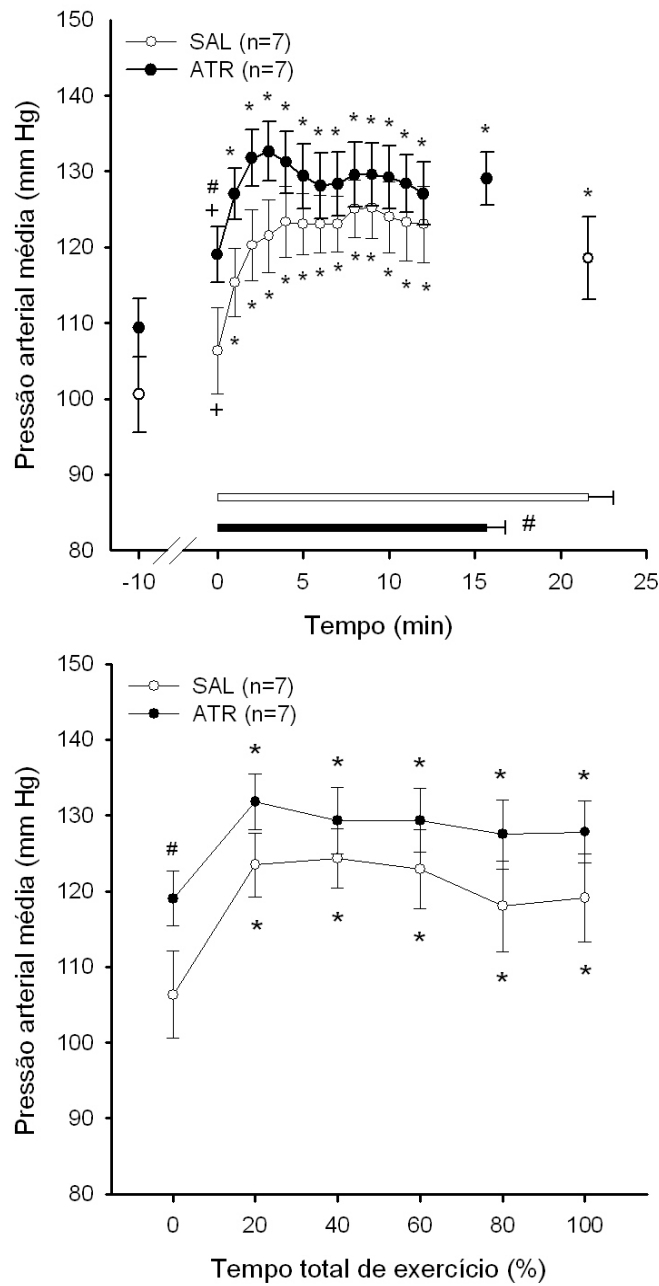


Figura 4.14: Efeito da injeção bilateral (200 η L) de salina 0,15 M ou de metilatropina $2,5 \times 10^{-2}$ M realizada nos núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre a pressão arterial média dos ratos em função do tempo de exercício (painel superior) e em função do percentual do tempo total de exercício (painel inferior). Os dados expressam média \pm EPM. * = $p \leq 0,05$ em comparação ao 0 min.; + = $p \leq 0,05$ em comparação ao -10 min.; # = $p \leq 0,05$ em comparação à situação salina.

4.13 Pressão arterial sistólica

A figura 4.15 apresenta os valores médios da pressão arterial sistólica, durante o exercício até a fadiga, após a injeção de salina 0,15 M ou de metilatropina $2,5 \times 10^{-2}$ M nos VMH.

Ao final dos 60 minutos de repouso, imediatamente antes das injeções nos VMH, a pressão arterial sistólica não foi diferente entre as duas situações experimentais ($121,2 \pm 3,5$ mmHg ATR vs. $114,5 \pm 6,2$ mmHg SAL; $p=0,728$). O manuseio, as injeções nos VMH e a transferência para a esteira aumentaram a pressão arterial sistólica dos ratos ($120,0 \pm 5,8$ mmHg aos 0 min. vs. $114,5 \pm 6,2$ mmHg aos -10 min. - SAL; $131,0 \pm 3,6$ mmHg aos 0 min. vs. $121,2 \pm 3,5$ mmHg aos -10 min. - ATR; $p \leq 0,05$).

O exercício aumentou a pressão arterial sistólica que permaneceu elevada até o momento da fadiga. Nos ratos controles, a pressão arterial sistólica aumentou a partir do 1º minuto de exercício ($131,8 \pm 3,6$ mmHg aos 1 min. vs. $120,0 \pm 5,8$ mmHg aos 0 min.; $p \leq 0,05$), assim como nos animais injetados com metilatropina ($142,2 \pm 4,2$ mmHg aos 1 min. vs. $131,0 \pm 3,6$ mmHg aos 0 min.; $p \leq 0,05$). O valor máximo da pressão arterial sistólica foi observado no 9º min de exercício quando os ratos foram injetados com salina ($139,7 \pm 4,8$ mmHg) e, no 2º min de exercício, nos injetados com metilatropina ($148,5 \pm 4,8$) mmHg. O bloqueio dos receptores muscarínicos dos VMH não modificou o aumento da pressão arterial sistólica induzido pelo exercício ($144,3 \pm 4,0$ mmHg ATR vs. $132,1 \pm 6,5$ mmHg SAL; fadiga).

A área sob a curva da pressão arterial sistólica, durante o exercício, também não foi diferente entre as situações experimentais (1737 ± 55 mmHg.min ATR vs. 1648 ± 54 mmHg.min SAL; $p=0,221$).

Quando os dados foram avaliados em função do percentual do tempo total de exercício, a pressão arterial sistólica aumentou a partir de 20% do tempo total de exercício nos ratos controles ($139,4 \pm 5,2$ mmHg aos 20% TTE vs. $120,0 \pm 5,8$ mmHg início do exercício; $p \leq 0,05$) e nos animais injetados com metilatropina ($147,9 \pm 4,6$ mmHg aos 20% TTE vs. $131,0 \pm 3,6$ mmHg início do exercício; $p \leq 0,05$). Não foram verificadas diferenças na pressão arterial média em função do percentual do tempo total de exercício entre as duas situações experimentais ($143,3 \pm 5,4$ mmHg ATR vs. $133,2 \pm 6,5$ mmHg SAL; aos 80% TTE).

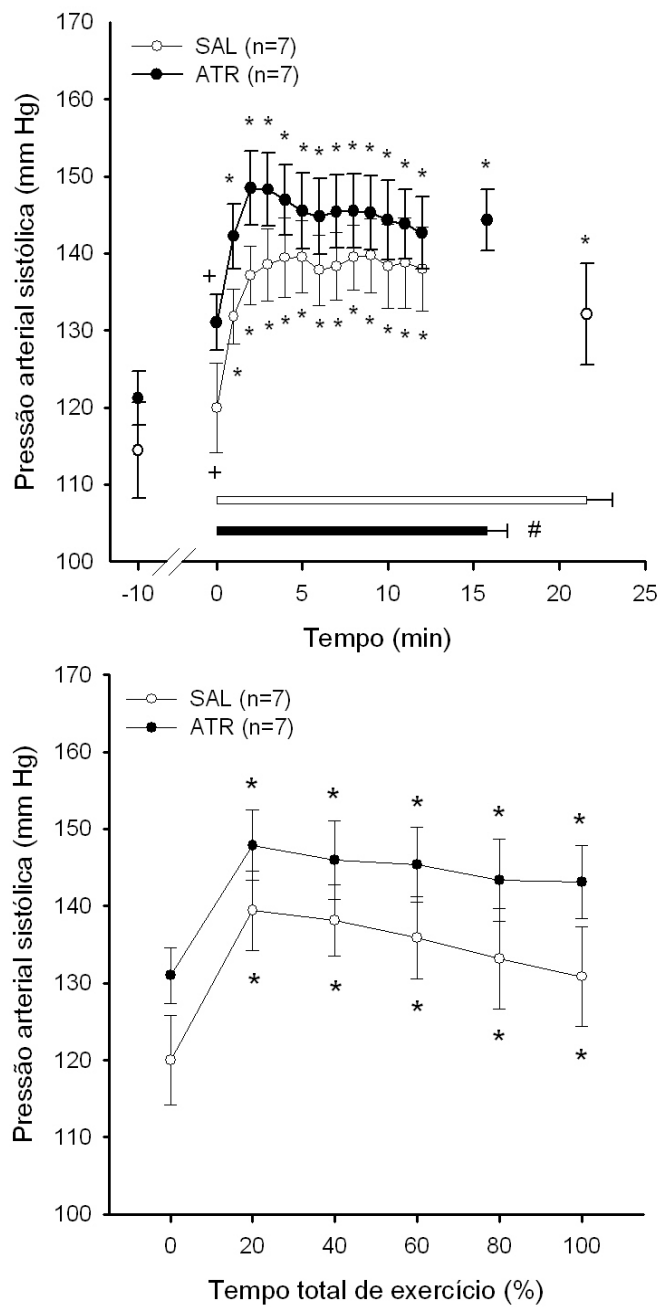


Figura 4.15: Efeito da injeção bilateral (200 η L) de salina 0,15 M ou de metilatropina $2,5 \times 10^{-2}$ M realizada nos núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre a pressão arterial sistólica dos ratos em função do tempo de exercício (painel superior) e em função do percentual do tempo total de exercício (painel inferior). Os dados expressam média \pm EPM. * = $p \leq 0,05$ em comparação ao 0 min.; + = $p \leq 0,05$ em comparação ao -10 min.

4.14 Pressão arterial diastólica

A figura 4.16 apresenta os valores médios da pressão arterial diastólica, durante o exercício até a fadiga, após a injeção de salina 0,15 M ou de metilatropina $2,5 \times 10^{-2}$ M nos VMH.

Ao final dos 60 minutos de repouso, imediatamente antes das injeções nos VMH, a pressão arterial diastólica não foi diferente entre as duas situações experimentais ($96,5 \pm 4,0$ mmHg ATR vs. $94,7 \pm 2,4$ mmHg SAL; $p=0,728$). A injeção de metilatropina nos VMH aumentou a pressão arterial diastólica dos ratos ($103,1 \pm 4,4$ mmHg aos 0 min. vs. $96,5 \pm 4,0$ mmHg aos -10 min.; $p \leq 0,05$).

O exercício aumentou a pressão arterial diastólica que permaneceu elevada até o momento da fadiga. Nos ratos controles, a pressão arterial diastólica aumentou a partir do 2º minuto de exercício ($103,6 \pm 4,8$ mmHg aos 2 min. vs. $94,3 \pm 6,8$ mmHg aos 0 min.; $p \leq 0,05$), enquanto nos animais injetados com metilatropina, o aumento ocorreu a partir do 1º minuto. ($109,8 \pm 3,6$ mmHg aos 1 min. vs. $103,1 \pm 4,4$ mmHg aos 0 min.; $p \leq 0,05$). O valor máximo da pressão arterial diastólica foi observado no 4º min de exercício quando os ratos foram injetados com salina ($106,0 \pm 5,3$ mmHg) e, no 3º min de exercício, nos injetados com metilatropina ($115,1 \pm 4,0$) mmHg. O bloqueio dos receptores muscarínicos dos VMH não modificou o aumento da pressão arterial diastólica induzido pelo exercício ($112,3 \pm 3,7$ mmHg ATR vs. $100,5 \pm 4,5$ mmHg SAL; fadiga).

A área sob a curva da pressão arterial diastólica, durante o exercício, também não foi diferente entre as situações experimentais (1345 ± 44 mmHg.min ATR vs. 1243 ± 53 mmHg.min SAL; $p=0,183$).

Quando os dados foram avaliados em função do percentual do tempo total de exercício, a pressão arterial diastólica aumentou a partir de 20% do tempo total de exercício nos ratos controles ($105,8 \pm 4,7$ mmHg aos 20% TTE vs. $94,3 \pm 6,8$ mmHg início do exercício; $p \leq 0,05$) e nos animais injetados com metilatropina ($115,7 \pm 4,3$ mmHg aos 20% TTE vs. $103,1 \pm 4,4$ mmHg início do exercício; $p \leq 0,05$). Não foram verificadas diferenças na pressão arterial média em função do percentual do tempo total de exercício entre as duas situações experimentais ($110,6 \pm 4,2$ mmHg ATR vs. $99,9 \pm 4,9$ mmHg SAL; aos 80% TTE).

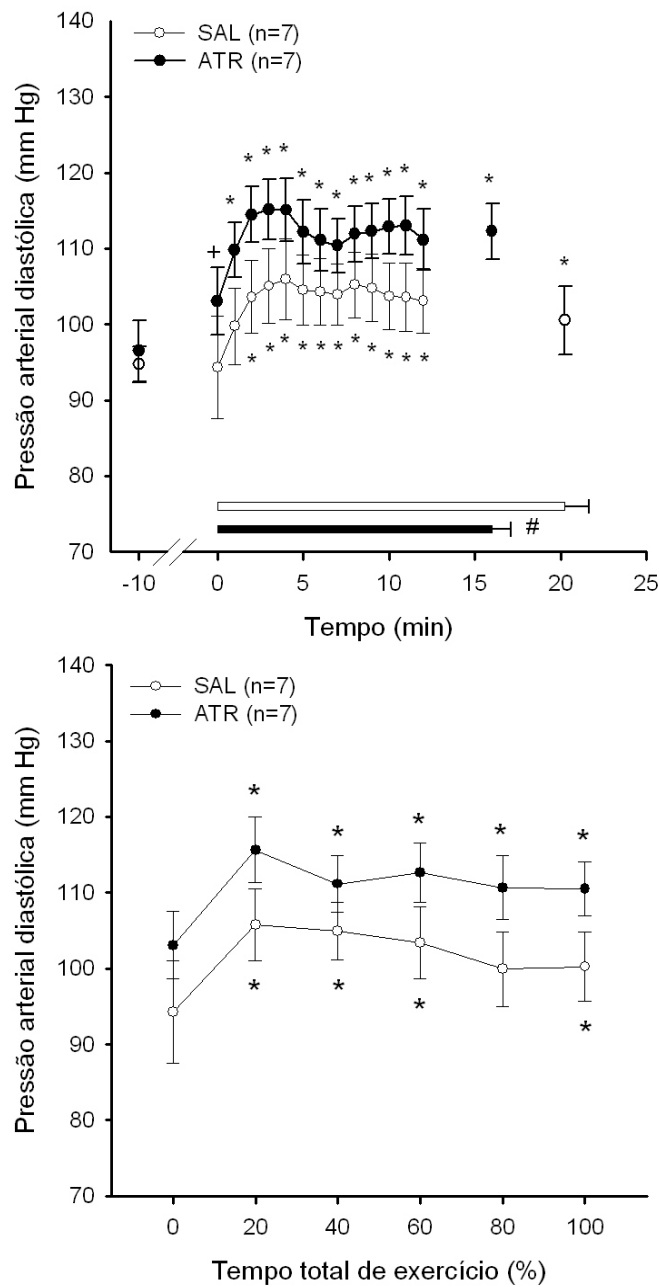


Figura 4.16: Efeito da injeção bilateral (200 η L) de salina 0,15 M ou de metilatropina $2,5 \times 10^{-2}$ M realizada nos núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre a pressão arterial diastólica dos ratos em função do tempo de exercício (painel superior) e em função do percentual do tempo total de exercício (painel inferior). Os dados expressam média \pm EPM. * = $p \leq 0,05$ em comparação ao 0 min.; + = $p \leq 0,05$ em comparação ao -10 min.

4.15 Freqüência cardíaca

A figura 4.17 apresenta os valores médios da freqüência cardíaca, durante o exercício até a fadiga, após a injeção de 0,15 M salina ou de metilatropina $2,5 \times 10^{-2}$ M nos VMH.

Ao final dos 60 minutos de repouso, imediatamente antes das injeções nos VMH, a freqüência cardíaca não foi diferente entre as duas situações experimentais ($362,6 \pm 12,1$ bpm ATR vs. $341,8 \pm 11,1$ bpm SAL; $p=0,728$). O manuseio, as injeções nos VMH e a transferência para a esteira aumentaram a freqüência cardíaca dos ratos ($419,7 \pm 14,1$ bpm aos 0 min. vs. $341,8 \pm 11,1$ bpm aos -10 min. - SAL; $428,4 \pm 8,5$ bpm aos 0 min. vs. $362,6 \pm 12,1$ bpm aos -10 min. - ATR; $p \leq 0,05$).

O exercício aumentou a freqüência cardíaca que permaneceu elevada até o momento da fadiga. Nos ratos controles, a freqüência cardíaca aumentou a partir do 1º minuto de exercício ($482,8 \pm 10,1$ bpm aos 1 min. vs. $419,7 \pm 14,1$ bpm aos 0 min.; $p \leq 0,05$), assim como nos animais injetados com metilatropina ($491,6 \pm 7,7$ bpm aos 1 min. vs. $428,4 \pm 8,5$ bpm aos 0 min.; $p \leq 0,05$). O bloqueio dos receptores muscarínicos dos VMH não modificou o aumento da freqüência cardíaca induzido pelo exercício ($534,0 \pm 8,7$ bpm ATR vs. $537,5 \pm 10,9$ bpm SAL; fadiga).

A área sob a curva da freqüência cardíaca, durante o exercício, também não foi diferente entre as situações experimentais (6357 ± 76 bpm.min ATR vs. 6263 ± 115 bpm.min SAL; $p=0,258$).

Quando os dados foram avaliados em função do percentual do tempo total de exercício, a freqüência cardíaca aumentou a partir de 20% do tempo total de exercício nos ratos controles ($530,9 \pm 9,9$ bpm aos 20% TTE vs. $419,7 \pm 14,1$ bpm início do exercício; $p \leq 0,05$) e nos animais injetados com metilatropina ($534,5 \pm 6,2$ bpm aos 20% TTE vs. $428,4 \pm 8,5$ bpm início do exercício; $p \leq 0,05$). Não foram verificadas diferenças na freqüência cardíaca em função do percentual do tempo total de exercício entre as duas situações experimentais ($541,9 \pm 7,7$ bpm ATR vs. $538,4 \pm 10,3$ bpm SAL; aos 80%).

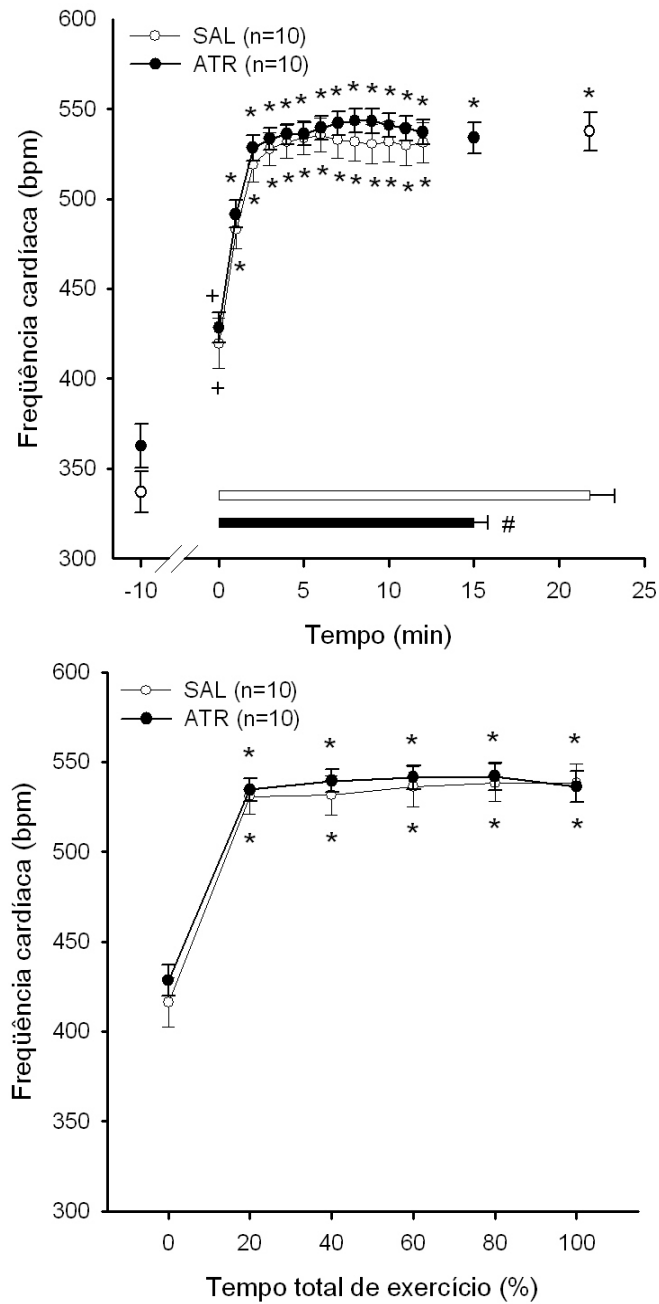


Figura 4.17: Efeito da injeção bilateral (200 η L) de salina 0,15 M ou de metilatropina $2,5 \times 10^{-2}$ M realizada nos núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre a frequência cardíaca dos ratos em função do tempo de exercício (painel superior) e em função do percentual do tempo total de exercício (painel inferior). Os dados expressam média \pm EPM. * = $p \leq 0,05$ em comparação ao 0 min.; + = $p \leq 0,05$ em comparação ao -10 min.; # = $p \leq 0,05$ em comparação ao controle.

4.16 Variáveis de controle

A tabela 4.3 apresenta as variáveis de controle medidas após as injeções de salina 0,15 M (n=33) ou de metilatropina $2,5 \times 10^{-2}$ M (n=29) nos ratos utilizados no segundo experimento. A temperatura da esteira e as temperaturas ambientes seca e úmida aumentaram durante o exercício. Não foram verificadas diferenças nas variáveis de controle entre as duas situações experimentais.

Tabela 4.3: Variáveis de controle no segundo experimento

Variável	SAL		ATR	
	0 min	Fadiga	0 min	Fadiga
Peso dos animais (g)	263,2 ± 17,4	xxx	263,2 ± 17,4	xxx
Temp. esteira (° C)	23,41 ± 0,67	23,99 ± 0,67 *	23,40 ± 0,68	23,84 ± 0,68 *
Temp. seca (° C)	23,4 ± 0,7	23,7 ± 0,8 *	23,3 ± 0,8	23,6 ± 0,7 *
Temp. úmida (° C)	19,2 ± 1,1	19,6 ± 1,3 *	18,8 ± 1,1	19,2 ± 0,9 *

Os dados expressam média ± DP. * $p \leq 0,01$ em comparação com o início do exercício

4.17 Efeitos da injeção de metilatropina no hipotálamo

A tabela 4.4 apresenta os efeitos da injeção de metilatropina, em diferentes áreas hipotalâmicas, nos ajustes termorregulatórios e cardiovasculares induzidos pelo exercício.

Tabela 4.4: Efeitos da injeção de metilatropina no hipotálamo

Variável	Núcleos ventromedias hipotalâmicos (VMH)	Região do núcleo arquedo (Arc)	Outras áreas hipotalâmicas
TTE (min)	↓	↔	↔
$T_{INTERNA}$ (° C)	↑	↓	↔
T_{CAUDA} (° C)	↓	↑	↔
TAC (cal/min)	↑	↓	↔
Ajustes cardiovasculares	Antecipou os ajustes	Não foram realizados experimentos	↔

↑ amplificou; ↓ reduziu; ↔ não modificou

Capítulo 5

Discussão

5.1 Núcleos ventromediais hipotalâmicos (VMH)

Como esperado, o presente estudo mostrou que o bloqueio dos receptores muscarínicos colinérgicos presentes nos VMH reduziu a duração do exercício realizado a 80% VO_{2max} . A injeção de metilatropina aumentou a taxa de acúmulo de calor corporal, amplificando o aumento da temperatura interna induzido pelo exercício. Esses resultados sugerem a inibição dos mecanismos de dissipação de calor durante o exercício (figura 4.8). Isso foi confirmado pelo atraso de 2 minutos no aumento do fluxo sanguíneo na cauda após a injeção do antagonista colinérgico, sendo necessário um maior acúmulo de calor para ativar o mecanismo de dissipação de calor. O calor acumulado até a vasodilatação correlacionou-se negativamente com o tempo total de exercício e pode ser um dos fatores relacionados com a redução de 37% no desempenho dos animais injetados com metilatropina (figura 4.11).

O bloqueio dos receptores muscarínicos dos VMH antecipou os ajustes cardiovasculares induzidos pelo exercício. Os valores máximos da pressão arterial média, sistólica e diastólica ocorreram antes nos ratos injetados com metilatropina em comparação com os animais controles. Isso sugere uma resposta simpática ao exercício mais rápida, o que pode explicar o retardo de 2 minutos no aumento do fluxo sanguíneo da cauda.

A temperatura interna e as variáveis cardiovasculares foram ajustadas conforme o percentual do tempo total de exercício. Não houve diferença nos valores medidos no momento da fadiga, embora o bloqueio muscarínico tenha antecipado a interrupção do exercício em 30 a 37%. A antecipação dos ajustes induzidos pelo exercício sugere que um efeito central da metilatropina, como se a percepção da intensidade do exercício estivesse aumentada, causando

uma resposta simpática aumentada.

Uma outra possível hipótese para explicar a redução do desempenho induzido pela metilatropina é a diminuição da motivação causada por fatores independentes dos ajustes da temperatura corporal. O envolvimento do hipotálamo no controle de alguns comportamentos já foi descrito. Os VMH estão envolvidos nas respostas de medo inato, como aquelas verificadas na presença de um predador [9] e, além disso, foi verificado que a estimulação elétrica da região ventral do hipotálamo medial induz respostas agressivas em gatos [56]. No entanto, é improvável que a metilatropina tenha interferido na motivação dos ratos, pois as respostas não foram diferentes nas duas situações experimentais, no momento da fadiga. Caso a motivação estivesse diminuída, seria esperado que os ratos realizassem um menor trabalho e interrompessem o exercício com respostas simpáticas reduzidas, o que não foi observado.

A redução do desempenho causada pelas injeções bilaterais de metilatropina nos VMH confirma os resultados obtidos em outros trabalhos desenvolvidos no nosso laboratório. Lima [40] verificou uma redução de 44% no tempo total de exercício realizado com intensidade e em ambiente semelhantes ao do presente estudo. E ainda Lima et al. [39] observaram redução de 32% na duração da corrida a 20 m/min e em ambiente frio (temperatura seca de 5° C).

Além disso, a redução do desempenho induzida pela metilatropina foi específica aos núcleos ventromediais hipotalâmicos, uma vez que as injeções realizadas em outras áreas do hipotálamo, incluindo a região do núcleo arqueado, não alteraram o tempo total de exercício dos ratos (figura 4.3). É provável que os VMH sejam um dos núcleos cerebrais envolvidos na redução do desempenho causada pela injeção icv de atropina [41, 42].

O tempo total de exercício dos ratos injetados com salina nos VMH foi maior em comparação com os animais injetados com salina em outras áreas hipotalâmicas. Essa diferença deve-se provavelmente à maior capacidade aeróbica dos ratos cujas cânulas foram colocadas nos VMH, uma vez que os ratos foram escolhidos aleatoriamente e o único critério para a inclusão dos animais no presente experimento foi a capacidade de correr a 20 m/min e 5% de inclinação, durante 5 minutos. No entanto, o efeito da metilatropina nos VMH se mostrou independente da capacidade aeróbia inata, pois quando comparamos os 4 ratos com o menor desempenho, a redução do tempo total de exercício continuou evidente e com proporção semelhante aos valores obtidos nos 5 ratos com o maior desempenho (34,1% menor desempenho vs. 39,5% maior desempenho; tabela 4.1).

Os ratos interromperam o exercício com temperaturas internas variando entre $37,86 \pm 0,32^\circ$

C e $38,65 \pm 0,24^\circ \text{C}$, que são valores menores que aqueles previamente descritos na literatura, nos quais a fadiga foi atingida com temperaturas internas de $39,2^\circ \text{C}$ [35], $39,8^\circ \text{C}$ [11] e 42°C [106]. A inexistência de uma temperatura absoluta crítica que limite o desempenho pode refletir a escolha da temperatura ambiente, da intensidade do exercício e dos diferentes protocolos para a interrupção do exercício [11, 35, 106]. Temperaturas internas variando entre $38,0^\circ$ e $38,5^\circ \text{C}$ não representam risco para a manutenção da homeostase e, nas condições experimentais do presente estudo, a fadiga provavelmente esteve relacionada com outros fatores tais como a taxa de acúmulo de calor, o tempo para aumentar o fluxo sanguíneo na cauda ou ainda uma alteração na percepção da intensidade do exercício. Em trabalho anterior do nosso laboratório, Rodrigues et al. [78] demonstraram que a taxa de acúmulo de calor foi a variável que melhor explicou a duração diferente do exercício realizado em 2 velocidades (20 e 24 m/min) e em 3 temperaturas ambientes (22, 28 e 35°C). Portanto, é possível que a maior taxa de acúmulo de calor, na situação em que a metilatropina foi injetada nos VMH, tenha antecipado a fadiga, impedido que a temperatura corporal atingisse valores elevados que comprometessem a integridade do organismo. O aumento da temperatura corporal está associado à interrupção do exercício em roedores [11, 35, 78, 86, 90, 106] e em seres humanos [12, 14, 17, 61]. Sugere-se que o aumento da temperatura interna diminua a estimulação proveniente do sistema nervoso central para a manutenção do exercício [61, 64] e assim precipite a sensação de fadiga, protegendo o cérebro de lesões térmicas.

Está bem descrito na literatura que os receptores colinérgicos cerebrais participam do controle da termorregulação e estudos histoquímicos comprovaram a existência desse neurotransmissor no hipotálamo [74, 94]. De maneira geral, a injeção de agonistas colinérgicos nos ventrículos cerebrais ou em áreas hipotalâmicas facilita a dissipação de calor, diminuindo a temperatura interna [2, 43, 69, 77, 97, 100]. Portanto, era esperado que a antecipação da fadiga causada pela injeção de metilatropina nos ventrículos cerebrais [41, 42] ou nos VMH [40] estivesse relacionada à termorregulação, hipótese confirmada pelos dados do presente estudo.

O aumento da temperatura interna foi dependente do percentual do tempo total de exercício nas duas situações experimentais (figura 4.5), embora os animais injetados com salina tenham realizado um maior trabalho em cada intervalo percentual. O bloqueio das sinapses colinérgicas dos VMH resultou em um maior acúmulo de calor corporal para o mesmo trabalho e isso pode ter ocorrido devido a uma maior produção de calor, a uma redução da dissipação de calor ou por ambos os mecanismos.

O aumento da temperatura corporal, durante o exercício contínuo, é resultado de um desequilíbrio temporário entre as taxas de produção e de dissipação de calor [108]. Assim que se inicia o exercício, há um aumento da atividade simpática que causa vasoconstrição na pele, diminuindo a dissipação de calor [109]. A vasoconstrição periférica possibilita a manutenção de uma pressão de perfusão adequada, uma vez que os ajustes cardiovasculares ocorrem mais rapidamente que os termorregulatórios [36]. Em consequência disso, a temperatura corporal aumenta até que o hipotálamo desencadeie a resposta para a vasodilatação, aumentando portanto a dissipação de calor. A partir de então, a produção e a dissipação de calor se equilibram, a temperatura interna atinge um platô e permanece elevada até a fadiga.

Lacerda et al. [35] observaram que a injeção icv de L-NAME, inibidor da síntese de óxido nítrico, aumentou a taxa de aquecimento corporal nos minutos iniciais de exercício devido ao aumento na temperatura corporal interna em que ocorreu a vasodilatação da cauda. Além disso, a injeção de L-NAME reduziu o trabalho realizado, que esteve correlacionado com a taxa de aquecimento corporal nos 11 minutos iniciais de exercício, tempo transcorrido até a estabilização da temperatura interna. Não foi possível submeter os dados do presente estudo à mesma análise, uma vez que os ratos injetados com metilatropina não apresentaram um equilíbrio térmico durante o exercício. A temperatura interna aumentou durante todo o exercício, sem atingir um platô, pois provavelmente a produção superou a dissipação de calor devido aos efeitos da metilatropina na termorregulação e/ou à maior intensidade de exercício utilizada em comparação com Lacerda et al. [35].

O hipotálamo regula a transferência de calor do interior para a superfície do corpo por meio da modulação simpática do fluxo sanguíneo na pele da cauda. O aumento do fluxo sanguíneo para a vasculatura da cauda pode ocorrer pelo aumento do débito cardíaco, diminuição da resistência periférica ou ambos mecanismos. O'Leary et al. [66] demonstraram que a ação das catecolaminas sobre os receptores adrenérgicos presentes na cauda causa vasoconstrição, com o conseqüente aumento da resistência periférica. É provável que a vasodilatação cutânea induzida pelo exercício dependa da redução da atividade simpática para a cauda do rato.

Como os VMH participam da modulação da atividade simpática em ratos anestesiados, em repouso [53] e durante o exercício [40, 104], é possível que esses núcleos hipotalâmicos estejam envolvidos nos ajustes do fluxo sanguíneo na cauda. Smith et al. [88] demonstraram, por meio de técnica anti-drômica, a ligação anatômica entre os núcleos ventromediais hipotalâmicos e a inervação dos vasos da cauda. Cinco de seis ratos sacrificados 7 dias após a injeção do vírus

atenuado da raiva na parede da artéria ventral da cauda apresentaram neurônios infectados nos VMH. É importante destacar que neurônios presentes em outros núcleos hipotalâmicos também estavam infectados com o vírus [88]. Isso sugere que a regulação do fluxo sanguíneo para a cauda envolve a participação conjunta de diversas áreas hipotalâmicas, dentre as quais estão os núcleos paraventriculares, os dorsomediais, o Arc e o hipotálamo posterior.

Os nossos dados mostraram que a vasodilatação da pele da cauda induzida pelo exercício foi atrasada e atenuada pela injeção de metilatropina nos VMH, o que contribuiu para um maior acúmulo de calor corporal. Como durante o exercício os ratos são incapazes de espalhar salina pelo corpo [86, 109], a vasodilatação cutânea é a principal forma de dissipar o calor produzido. Lima [40] mostrou que a injeção de metilatropina nos VMH aumentou as concentrações plasmáticas de adrenalina e noradrenalina no momento da fadiga e é provável que uma maior atividade simpática para a cauda tenha atrasado e atenuado a vasodilatação induzida pelo exercício.

Existem evidências que os receptores colinérgicos centrais modulam a atividade simpato-adrenal. Lima et al. [41] mostraram que a adrenodemedulação bilateral acentuou a redução do desempenho causado pela injeção icv de atropina, enquanto Rodrigues [76] observou que a ausência das catecolaminas adrenais reduziu o aumento do consumo de oxigênio após a estimulação colinérgica central. Dessa forma, uma das vias que pode estar envolvida no aumento da atividade simpática após o bloqueio dos receptores colinérgicos dos VMH é o eixo simpato-adrenal. Yoshimatsu et al. [114], assim como Lima [40], verificaram a existência de ligações funcionais entre os VMH e as medulas adrenais. As lesões dos VMH aumentaram a atividade do nervo adrenal, embora a estimulação elétrica desses núcleos não tenha causado modificações. Uma outra possibilidade é que os VMH possuem conexões com outras áreas cerebrais que modulam a atividade simpática. Projeções eferentes a partir dos VMH, após atravessarem o hipotálamo posterior e a substância cinzenta central, foram encontradas no pólo anterior do locus coeruleus [83], área de onde partem projeções noradrenérgicas para todo o sistema nervoso central.

Protocolos experimentais em que os VMH foram lesionados, estimulados eletricamente ou tiveram sua função bloqueada por anestésico local [19, 113, 114, 104], sugerem que as eferências desses núcleos hipotalâmicos causam o aumento da atividade simpática e a redução da atividade parassimpática. Como os nossos experimentos mostraram que o bloqueio das sinapses colinérgicas aumentaram a atividade simpática, é provável que a neurotransmissão

colinérgica nos VMH seja inibitória. Yokawa et al. [59, 112] demonstraram a existência de sinapses GABAérgicas inibitórias nos VMH, sendo que a injeção do antagonista gabaérgico bicuculina aumentou o número de revoluções realizadas pelos ratos na roda de corrida. Existem evidências da interação entre as neurotransmissões colinérgicas e GABAérgicas, sendo que a liberação de acetilcolina é diretamente modulada pela estimulação dos receptores GABA-A localizados nos neurônios colinérgicos no estriato de ratos [26].

Nagashima et al. [55] descreveram as vias eferentes para a dissipação de calor a partir da área pré-ótica, a qual é o principal sítio termossensitivo do cérebro. As vias eferentes a partir da área pré-ótica descendem através do feixe medial prosencefálico e duas regiões diferentes no mesencéfalo provavelmente possuem neurônios que controlam o tônus vasomotor da cauda. Uma das vias estende a partir da borda caudal do hipotálamo lateral para a formação reticular e a para substância cinza periaquedutal e a outra região é a área tegmental ventral. A primeira área contém neurônios que são estimulados pelo aquecimento da área pré-ótica, enquanto a última contém neurônios que são inibidos. Dessa forma, neurônios sensíveis ao calor na área pré-ótica provavelmente enviam sinais excitatórios para os neurônios vasodiladores e sinais inibitórios para os neurônios inibitórios no mesencéfalo [117]. Em ratos, os neurônios do tronco encefálico são projetados para os núcleos da rafe, onde provavelmente se encontram os neurônios pré-motores.

É possível que os neurônios dos VMH participem da conexão anatômica entre a área pré-ótica e o feixe medial prosencefálico. Luiten et al. [45] demonstraram que os VMH recebem aferências da área pré-ótica medial e, além disso, estudos que manipularam a função dos VMH comprovam a conexão entre essas duas áreas hipotalâmicas. Thornhill et al. [98] observaram que a injeção de lidocaina nos VMH aboliu o aumento da termogênese do tecido adiposo marrom e o aumento da pressão arterial média induzidos pela estimulação elétrica da área pré-ótica medial. Foi verificado também que os neurônios presentes nos VMH alteram sua frequência de disparo em resposta a alterações na temperatura da área pré-ótica. Enquanto, em relação às eferências desse núcleo hipotalâmico, fibras descendentes a partir dos VMH seguem 3 vias principais, sendo que uma dessas projeta-se através do feixe medial do prosencéfalo até a área tegmental ventral [83]. Em conjunto, esses dados sugerem que os VMH participam de uma via de controle do fluxo sanguíneo da cauda, a qual é inibida pelo aquecimento da área pré-ótica. Corroborando essa hipótese, Imai-Matsumura et al. [27] observaram que mais neurônios dos VMH responderam ao resfriamento em comparação ao aquecimento da área pré-ótica.

De maneira geral, os VMH parecem estar envolvidos nas respostas de defesa contra o frio, estimulando a produção de calor, diminuindo a dissipação de calor e induzindo formas comportamentais de conservação de calor. Morimoto et al. [53] relataram que a estimulação elétrica unilateral do VMH reduziu a temperatura da pele da orelha em coelhos e aumentou o consumo de oxigênio, levando a um aumento progressivo da temperatura retal. A frequência respiratória diminuiu, os animais encolheram-se e houve tremor nos membros inferiores. Além disso, Monda et al. demonstraram que os VMH estão envolvidos nas respostas termogênicas induzidas pela injeção icv de prostaglandina E1 [50] e de orexina A [52].

Os VMH também estão envolvidos nas vias eferentes que desencadeiam a termogênese não induzida pelo tremor. Nagashima et al. [55] propõem que, em conjunto com os núcleos dorsomediais e dos núcleos paraventriculares, os VMH pertencem a uma via hipotalâmica excitatória que aumenta a atividade simpática para o tecido adiposo marrom. Thornhill et al. [98] observaram que o bloqueio dos VMH com anestésico local aboliu o aumento da temperatura do tecido adiposo marrom interescapular causada pela estimulação elétrica da área pré-ótica medial. Resultados de outro estudo mostraram que ratos com lesões nos VMH foram incapazes de responder ao resfriamento da pele, enquanto os ratos controles aumentaram a frequência de estimulação eferente para o tecido adiposo marrom interescapular quando submetidos ao mesmo estímulo térmico [62]. No entanto, a função do tecido adiposo marrom durante o exercício, após a injeção de metilatropina nos VMH, ainda não foi avaliada.

Dados preliminares do nosso laboratório sugerem que o bloqueio dos receptores muscarínicos colinérgicos nos VMH tenha alterado a produção de calor durante o exercício. O resultado de um experimento mostrou um aumento mais rápido do consumo de oxigênio após a injeção de metilatropina nos VMH, embora o valor no momento da fadiga não tenha sido diferente em comparação à situação salina (figura 5.1). Mais dados são necessários para confirmar esse resultado. Caso os animais tenham consumido um maior volume de oxigênio para o mesmo trabalho realizado, a eficiência mecânica seria reduzida e isso poderia antecipar a fadiga. Ratos que apresentaram menor eficiência mecânica após a injeção icv de L-triptofano [89] e de L-NAME [34] realizaram menor tempo total de exercício. O controle da taxa metabólica pelos VMH já foi demonstrado. Experimentos com coelhos mostraram que a estimulação elétrica do VMH aumentou o consumo de oxigênio, o que contribuiu para o aumento da temperatura interna [53]. Além disso, estudos em que os VMH foram lesionados verificaram a diminuição da taxa metabólica dos animais, o que contribuiu para o desenvolvimento da obesidade [103].

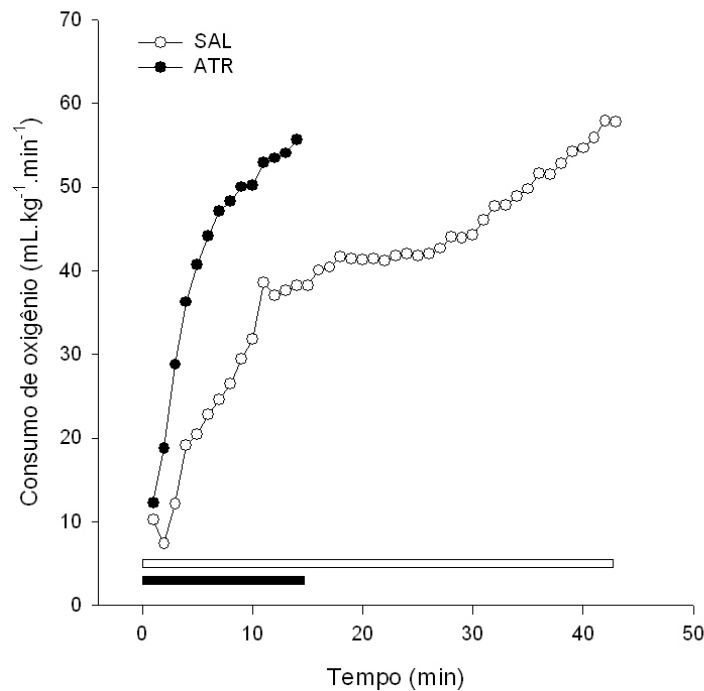


Figura 5.1: Efeito da injeção bilateral ($0,2 \mu\text{L}$) de salina $0,15 \text{ M}$ ou de metilatropina $2,5 \times 10^{-2} \text{ M}$ realizada nos núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre o consumo de oxigênio dos ratos em função do tempo de exercício. Os dados são referentes a um animal.

O fluxo sangüíneo na cauda é resultado dos ajustes termorregulatórios e dos cardiovasculares. Experimentos com ratos em repouso mostraram a existência de uma via moduladora do sistema cardiovascular que se inicia na região AV3V e que estimula a atividade simpática após atravessar os VMH [33]. Além disso, foi demonstrada também a participação da neurotransmissão colinérgica dos VMH nos ajustes cardiovasculares [101, 102]. Os nossos dados indicam que o bloqueio dos receptores muscarínicos presentes nos núcleos antecipou as respostas cardiovasculares induzidas pelo exercício. Essa resposta não foi ainda mais evidente possivelmente pela ativação de outras vias moduladoras do sistema cardiovascular durante o exercício, que não necessariamente atravessam os VMH.

Estudos relataram a participação do sistema GABAérgico presente nos VMH na indução da atividade física realizada em roda de corrida [59, 58, 112]. Esse mecanismo gabaérgico envolvido na supressão da atividade locomotora foi também demonstrado em outros locais do sistema motor, dentre as quais estão o corpo estriado, a região locomotora sub-talâmica e a região locomotora do mesencéfalo. Narita et al. [58] observaram que o aumento da locomoção causada pela injeção de um agonista glutamatérgico ou de um antagonista GABAérgico nos

VMH, foi acompanhada do aumento da atividade simpática e da atividade do eixo hipotálamo - hipófise - córtex da adrenal. No início do exercício, o córtex motor, simultaneamente e em paralelo ao estímulo para a contração muscular, aumenta a atividade simpática para diversos órgãos como fígado, coração e os vasos sanguíneos da pele [87] por meio de uma via mediada pelo hipotálamo. Essa estimulação autonômica associada à estimulação do sistema motor representam o comando central para o exercício (mecanismo de pré-alimentação). Esses dados em conjunto sugerem que os VMH possam estar envolvidos no comando central para o exercício e que o bloqueio das sinapses colinérgicas presentes nesses núcleos possa aumentar a estimulação simpática desencadeada pela contração muscular.

Entretanto, os dados apresentados por Narita et al. [58] foram medidos em intervalos de 10 minutos e não foi possível verificar com precisão se o aumento da atividade simpática foi concomitante ao início do exercício. Após 10 minutos de exercício, os mecanismos de retroalimentação já estavam ativados. Além disso, nos nossos experimentos, o bloqueio colinérgico dos VMH não modificou a corrida dos ratos nos minutos iniciais do exercício. Portanto, é possível que os VMH sejam centros cerebrais que integram as informações aferentes a partir da periferia do organismo e portanto determinam os ajustes dos sistemas fisiológicos em função da percepção da intensidade do exercício. Lima [40] demonstrou que os ajustes termorregulatórios, cardiovasculares e metabólicos foram antecipados nos ratos que receberam injeções de metilatropina nos VMH, embora os valores máximos obtidos no momento da fadiga não tenham sido diferentes. Sugeriu-se que, após a injeção de metilatropina, a mesma informação aferente tenha sido interpretada como uma maior intensidade de exercício, o que pode ter contribuído para a antecipação da fadiga.

O nosso modelo de fadiga supõe que o mecanismo é uma decisão consciente do animal para interromper o exercício antes que seja atingido o limite de comprometimento de qualquer um dos sistemas fisiológicos envolvidos com a atividade física, o que implica a participação de centros cerebrais superiores [81]. Estudos sugerem a existência de conexões anatômicas e funcionais entre os VMH e o hipocampo. O aumento da atividade simpática induzida pela estimulação colinérgica do hipocampo é abolida pela injeção de atropina [23] e de muscimol [67] nos VMH, bem como pelas lesões bilaterais desses núcleos [24]. Além disso, Monda et al. [51] verificaram o aumento da frequência de disparo dos neurônios dos VMH após a injeção de neostigmina na região dorsal do hipocampo, o que elevou a temperatura do tecido adiposo marrom interescapular e o consumo de oxigênio, aumentando a temperatura colônica dos

ratos.

Essa ligação funcional entre hipotálamo e hipocampo parece estar sob influência do córtex frontal [51]. A decorticação funcional atenuou o aumento da frequência de disparo dos neurônios dos VMH causada pela estimulação colinérgica do hipocampo. No entanto, todos esses experimentos foram realizados em ratos anestesiados [23, 24, 51, 67]. A ligação funcional entre os núcleos ventromediais hipotalâmicos, o hipocampo e as áreas corticais ainda não foi demonstrada durante o exercício.

5.2 Região do núcleo arqueado

De maneira inesperada, quando a metilatropina foi injetada na região ventral aos VMH, onde o Arc está localizado, verificou-se o aumento a dissipação de calor durante o exercício. Esse efeito foi contrário àquele produzido pela injeção do antagonista colinérgico nos VMH, sugerindo a existência de duas populações diferentes de neurônios colinérgicos no hipotálamo medial basal. Em função da facilitação dos mecanismos de dissipação de calor, os ratos tiveram menor aumento da temperatura interna e menor taxa de acúmulo de calor (figura 4.10), embora o desempenho não tenha sido alterado (figura 4.3).

Nos ratos controles, o aumento da temperatura interna precedeu o aumento da temperatura da cauda. Por outro lado, após a injeção de metilatropina nos Arc, o aumento da temperatura da cauda precedeu o aumento da temperatura interna durante o exercício. A temperatura da cauda aumentou aos 4,5 minutos de exercício, enquanto a temperatura interna aumentou apenas aos 7 minutos (figura 4.6).

Segundo a hipótese da regulação pelo calor proposta por Webb [108], temperaturas corporais elevadas durante o exercício são resultado do fluxo de energia corporal. Os efetores da dissipação de calor, a qual é ajustada para contrabalançar a produção de calor, podem ser modulados e limitados por sistemas não-termorregulatórios, tais como o controle cardiovascular e o respiratório. Alguns modelos experimentais usando ratos anestesiados ou em repouso demonstraram que as temperaturas interna e da pele são moduladas pelo barorreflexo. Zhang et al. [116] mostraram que aumentos progressivos na pressão no barorreceptor carotídeo aumentou a temperatura da cauda, o que por sua vez levou à redução da pressão arterial sistêmica e da temperatura corporal. O'Leary e Johnson [65] também demonstraram que o aumento na pressão arterial média causado pela administração intravenosa de fenilefrina va-

sodilatou a cauda em ratos normotérmicos. No entanto, a mesma elevação na pressão arterial foi inefetiva para causar uma vasodilatação reflexa em ratos hipertérmicos, uma vez que a resistência periférica já estava reduzida.

A modulação do fluxo na cauda pelo sistema cardiovascular também foi demonstrada durante o exercício. Pires et al. [70] observaram que a estimulação colinérgica central acentuou a resposta pressora induzida pelo exercício, o que aumentou a dissipação de calor pela cauda. Esse ajuste ocorreu mesmo estando a pressão arterial diastólica elevada, o que sugere uma maior resistência na vasculatura da cauda. É possível que a capacidade do coração aumentar o débito cardíaco tenha suplantado o aumento da resistência periférica, gerando um maior fluxo sanguíneo na cauda. Dados semelhantes foram observados após a injeção icv de fisostigmina em ratos durante o repouso [70].

O envolvimento do Arc na regulação cardiovascular já foi descrito. A estimulação química do Arc induz repostas pressoras [44] e neurônios marcados com c-fos foram encontrados nesse núcleo após os ratos serem submetidos à hipo- e hipervolemia central [71]. Além disso, existe evidência que a redução do *binding* do receptor muscarínico no Arc, em crianças, contribui para a falha das respostas aos desafios cardiopulmonares durante o sono, causando morte súbita [31]. Dessa forma, a facilitação dos mecanismos de dissipação de calor induzida pelo bloqueio colinérgico no Arc pode estar associada a um mecanismo independente do reflexo termorregulatório.

Uma outra possível explicação é que a metilatropina no Arc tornou o mecanismo de dissipação de calor mais sensível para um determinado acúmulo de calor, acelerando a retirada da atividade simpática sobre os vasos da cauda após o início do exercício.

A região ventral do hipotálamo medial basal tem sido considerada uma área de integração dos sinais reguladores do apetite, uma vez que está localizada sobre a eminência mediana, a qual não possui uma barreira hemato-encefálica completa [92]. As vias hipotalâmicas que regulam a homeostase energética e a termorregulação parecem possuir algumas áreas de interseção e existem evidências que os neuropeptídeos no Arc regulam concomitantemente a ingestão de alimentos e o gasto energético. A injeção de orexina A nesse núcleo aumentou a temperatura colônica [107], enquanto a injeção de neuropeptídeo Y induziu uma hipotermia dependente da dose [28]. Nos nossos experimentos, a injeção de metilatropina atenuou o aumento da temperatura interna e, possivelmente, esse é o primeiro estudo a demonstrar a participação dos receptores colinérgicos muscarínicos do Arc nos ajustes termorregulatórios

durante o exercício.

A participação do Arc nos ajustes do fluxo sanguíneo foi sugerida pela técnica de transporte anterógrado [88] e pode estar relacionada com a modulação da via eferente que atravessa o VMH. Conexões anatômicas intra-hipotalâmicas entre os VMH e Arc já foram descritas [45]. Além disso, os neurônios do Arc se projetam para outros núcleos hipotalâmicos tais como a área hipotalâmica lateral, os núcleos dorsomediais e os paraventriculares, os quais também parecem estar envolvidos nas vias eferentes de dissipação de calor [88].

Mesmo com o efeito protetor de uma menor temperatura corporal, nós mostramos que a menor taxa de acúmulo corporal não foi associada a um aumento da duração do exercício após a injeção de metilatropina nos Arc. Resultados semelhantes foram observados após a injeção icv de fisostigmina que facilitou os mecanismos de dissipação de calor, sem modificar a duração do exercício com velocidades de 20 m/min [77] e de 24 m/min [70]. Esse achado que a atenuação do aumento da temperatura interna não modificou o desempenho dos ratos pode ser explicado pelo entendimento da fadiga como um mecanismo de defesa que integra os ajustes dos sistemas fisiológicos para determinar a potência e duração do exercício suportáveis [63, 81]. Como a termorregulação representa um dos mecanismos envolvidos na fadiga, é possível que o SNC tenha interpretado que, isoladamente, o menor aumento da temperatura interna não representasse um motivo para prolongar o exercício. Outros fatores podem ter sido determinantes para o surgimento da fadiga, tais como: o fornecimento inadequado de substratos e de oxigênio para os músculos em atividade, o aumento da concentração cerebral de serotonina e o desequilíbrio ácido-básico. Rodrigues et al. [77] sugeriram que o maior fluxo sanguíneo na cauda pode ter gerado uma incapacidade de fornecer um débito cardíaco adequado para os músculos em contração.

Capítulo 6

Conclusões

Os receptores colinérgicos muscarínicos dos núcleos ventromediais hipotalâmicos:

1- determinam o tempo de exercício até a fadiga;

2- facilitam a dissipação de calor durante o exercício, efeito oposto ao dos receptores colinérgicos muscarínicos na região do núcleo arqueado.

3- participam dos ajustes cardiovasculares durante o exercício.

Referências Bibliográficas

- [1] A. Ally, L.B. Wilson, A.C.L. Nóbrega, and J.H. Mitchell. Cardiovascular effects elicited by central administration of physostigmine via m2 muscarinic receptors in conscious cats. *Brain Research*, 677(2):268–276, 1995.
- [2] J. Baird and W.J. Lang. Temperature responses in the rat and cat to cholinomimetic drugs injected into the cerebral ventricles. *European Journal of Pharmacology*, 21(2):203–211, 1973.
- [3] M. Bamshad, C.K. Song, and T.J. Bartness. Cns origins of the sympathetic nervous system outflow to brown adipose tissue. *American Journal of Physiology*, 276(45):R1569–R1578, 1999.
- [4] R. Bastos, J.V. Menani, W.A. Saad, A. Renzi, J.E.N. Silveira, and L.A.A. Camargo. Ventromedial hypothalamus lesions increase the dipsogenic responses and reduce the pressor responses to median preoptic area activation. *Physiology and Behavior*, 62(2):311–316, 1997.
- [5] V. Bigl and T. Arendt. Cholinergic neurons of the central nervous system: morphofunctional aspects. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 366(Suplemento):7–13, 1991.
- [6] G.A. Bray and D.A. York. Hypothalamic and genetic obesity in experimental animals; an autonomic and endocrine hypothesis. *Physiological Reviews*, 59(3):719–809, 1979.
- [7] N.A. Brito, M.N. Brito, I.C. Kettelhut, and R.H. Migliorini. Intra-ventromedial hypothalamic injection of cholinergic agents induce rapid hyperglycemia, hyperlactatemia and gluconeogenesis activation in fed, conscious rats. *Brain Research*, 626(1-2):339–342, 1993.

- [8] N.A. Brito, M.N. Brito, C. Timo-Iaria, I.C. Kettelhut, and R.H. Migliorini. Centrally injected atropine reduces hyperglycemia caused by 2-dg or immobilization stress in awake rats. *Physiology and Behavior*, 72(1-2):175–179, 2001.
- [9] N.S. Canteras. Análise crítica dos sistemas neurais envolvidos nas respostas de medo inato. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, 25(supplement II):21–24, 2003.
- [10] J.M. Fruth and C.V. Gisolfi. Work-heat tolerance in endurance-trained rats. *Journal of Applied Physiology*, 54(1):249–253, 1993.
- [11] A. Fuller, R.N. Carter, and D. Mitchell. Brain and abdominal temperatures at fatigue in rats exercising in the heat. *Journal of Applied Physiology*, 84(3):877–883, 1998.
- [12] S.D. Galloway and R.J. Maughan. Effects of ambient temperature on the capacity to perform prolonged cycle exercise in man. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 29(9):1240–1249, 1997.
- [13] S.C. Gandevia. Some central and peripheral factors affecting human motoneuronal output in neuromuscular fatigue. *Sports Medicine*, 13(2):93–98, 1992.
- [14] J. Gonzalez-Alonso, C. Teller, S.L. Andersen, F.B. Jensen, T. Hyldig, and B. Nielsen. Influence of body temperature on the development of fatigue during prolonged exercise in the heat. *Journal of Applied Physiology*, 86(3):1032–1039, 1999.
- [15] C.J. Gordon. *Temperature regulation in laboratory rodents*. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom, 1993.
- [16] M. Gotoh, T. Tajima, Y. Suzuki, H. Ikari, A. Iguchi, S. Kakumu, and Y. Hirooka. Swimming stress that causes hyperglycemia increases in vivo release of noradrenaline, but not acetylcholine, from the hypothalamus of conscious rats. *Brain Research*, 780(1):74–79, 1998.
- [17] M.T. Guimarães and E. Silami-Garcia. Water replacement and thermoregulatory responses during prolonged exercise. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 26(11):1237–1240, 1993.
- [18] F.R. Hainsworth and E.M. Stricker. Evaporative cooling in the rat: effects of partial desalivation. *American Journal of Physiology*, 217(2):494–497, 1969.

- [19] F.M. Hansen, P. Nilsson, B.E. Hustvedt, P. Nilsson-Ehle P, and A. Lovo. Significance of hyperinsulinemia in ventromedial hypothalamus-lesioned rats. *American Journal of Physiology*, 244(3):E203–208, 1983.
- [20] M. Hirasawa, M. Nishihara, and M. Takahashi. Neural activity in the vmh associated with suppression of the circulatory system in rats. *Physiology and Behavior*, 59(6):1017–1023, 1996.
- [21] R.W. Hubbard, W.T. Matthew, J.D. Linduska, F.C. Curtis, W.D. Bowers, I. Leav, and M. Mager. The laboratory rat as a model for hyperthermic syndromes in humans. *American Journal of Physiology*, 231(4):1119–1123, 1976.
- [22] A. Iguchi, M. Gotoh, H. Matsunaga, A. Yatomi, A. Honmura, M. Yanase, and N. Sakamoto. Mechanism of central hyperglycemic effect of cholinergic agonists in fasted rats. *American Journal of Physiology*, 251(14):E431–437, 1986.
- [23] A. Iguchi, K. Uemura, Y. Kunoh, H. Miura, T. Ishiguro, K. Nonogaki, T. Tamagawa, M. Gotoh, and N. Sakamoto. Hyperglycemia induced by hippocampal administration of neostigmine is suppressed by intrahypothalamic atropine. *Neuropharmacology*, 30(10):1129–1131, 1991.
- [24] A. Iguchi, K. Uemura, H. Miura, T. Ishiguro, K. Nonogaki, T. Tamagawa, K. Goshima, and N. Sakamoto. Mechanism of intrahippocampal neostigmine-induced hyperglycemia in fed rats. *Neuroendocrinology*, 55(1):44–50, 1992.
- [25] A. Iguchi, A. Yatomi, M. Gotoh, H. Matsunaga, K. Uemura, H. Miura, T. Satake, T. Tamagawa, and N. Sakamoto. Neostigmine-induced hyperglycemia is mediated by central muscarinic receptor in fed rats. *Brain Research*, 507(2):295–300, 1990.
- [26] Y. Ikarashi, M. Yuzurihara, A. Takahashi, H. Ishimaru, T. Shiobara, and Y. Maruyama. Modulation of acetylcholine release via gabaa and gabab receptors in rat striatum. *Brain Research*, 816(1):238–240, 1999.
- [27] K. Imai-Matsumura, K. Matsumura, C.L. Tsai, and T. Nakayama. Thermal responses of ventromedial hypothalamic neurons in vivo and in vitro. *Brain Research*, 445(1):193–197, 1988.

- [28] F.B. Jolicoeur, S.M. Bouali, A. Fournier, and S. St-Pierre. Mapping of hypothalamic sites involved in the effects of npy on body temperature and food intake. *Brain Research Bulletin*, 36(2):125–129, 1995.
- [29] E.R. Kandel, J.H. Schwartz, and T.M. Jessell. *Principles of Neural Science*. McGraw-Hill, Rio de Janeiro, 4th edition, 2000.
- [30] B. Kayser. Exercise starts and ends in the brain. *European Journal of Applied Physiology*, 90(3-4):411–419, 2003.
- [31] M. Kinney, J.J. Filiano, L.A. Sleeper, F. Mandell, M. Valdes-Dapena, and W.F. White. Decreased muscarine receptor binding in the arcuate nucleus in sudden infant death syndrome. *Science*, 269(5229):1446–1450, 1995.
- [32] W.E. Kirkpatrick and P. Lomax. The effect of atropine on the body temperature of the rat following systemic and intracerebral injection. *Life Sciences*, 6(21):2273–2278, 1967.
- [33] M.M. Knuepfer, A.K. Johnson, and M.J. Brody. Vasomotor projections from the anteroventral third ventricle (av3v) region. *American Journal of Physiology*, 247(16):H139–H145, 1984.
- [34] A.C.R. Lacerda, U. Marubayashi, C.H. Balthazar, and C.C. Coimbra. Evidence that brain oxide inhibition increases metabolic cost of exercise, reducing running performance in rats. *Neuroscience Letters*, 393(2-3):260–263, 2006.
- [35] A.C.R. Lacerda, U. Marubayashi, and C.C. Coimbra. Effect of intracerebroventricular injection of atropine on metabolic responses during exercise in untrained rats. *Brain Research Bulletin*, 67(1-2):110–116, 2005.
- [36] M.H. Laughlin, R.J. Korthuis, D.J. Duncker, and R.J. Bache. *Handbook of Physiology (Section 12): Exercise: Regulation and integration of multiple systems*, chapter Control of blood flow to cardiac and skeletal muscle during exercise. Oxford University Press, New York, 1996.
- [37] B.E. Levin, V.H. Routh, L. Kang, N.M. Sanders, and A.A. Dunn-Meynell. Neuronal glucosensing: what do we know after 50 years? *Diabetes*, 53(10):2521–2528, 2004.

- [38] J. Li, H.E. Brezenoff, and N.C. Tkacs. Identification of pressor regions activated by central cholinergic stimulation in rat brain. *European Journal of Pharmacology*, 337(2-3):227–233, 1997.
- [39] M.R.M Lima, S.C. Machado, J.B. Guimarães, S.P. Wanner, W. Pires, R.B. La Guardia, D.D. Soares, and N.R.V. Lima. Controle dos núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre a termorregulação de ratos durante o exercício em ambiente frio. In *Anais da XIV Semana de Iniciação Científica da Universidade Federal de Minas Gerais. CD-ROM.*, 2005.
- [40] N.R.V. Lima. *Efeitos da metilatropina nos núcleos ventromediais do hipotálamo sobre as alterações metabólicas e cardiovasculares e no tempo total de exercício em ratos não treinados*. PhD thesis, Instituto de Ciências Biológicas da UFMG, Belo Horizonte, 2000.
- [41] N.R.V. Lima, C.C. Coimbra, and U. Marubayashi. Effect of intracerebroventricular injection of atropine on metabolic responses during exercise in untrained rats. *Physiology and Behavior*, 64(1):69–74, 1998.
- [42] N.R.V. Lima, W. Pereira, A.M. Reis, C.C. Coimbra, and U. Marubayashi. Prolactin release during exercise in normal and adrenalectomized untrained rats submitted to central cholinergic blockade with atropine. *Hormones and Behavior*, 40(4):526–532, 2001.
- [43] M.T. Lin, H.C. Wang, and A. Chandra. The effects on thermoregulation of intracerebroventricular injections of acetylcholine, pilocarpine, physostigmine, atropine and hemicholinium in the rat. *Neuropharmacology*, 19(6):561–565, 1980.
- [44] Y. Lu, C.J. Zou, D.W. Huang, and C.S. Tang. Cardiovascular effects of urotensin ii in different brain areas. *Peptides*, 23(9):1631–1635, 2002.
- [45] P.G. Luiten and P. Room. Interrelations between lateral, dorsomedial and ventromedial hypothalamic nuclei in the rat. an hrp study. *Brain Research*, 190(2):321–332, 1980.
- [46] H.W. Magoun, F. Harrison, J.R. Brobeck, and S.W. Ranson. Activation of heat loss mechanisms by local heating of the brain. *Journal of Neurophysiology*, 1:101–114, 1938.

- [47] A.J. Marsh, M.A. Fontes, S. Killinger, D.B. Pawlak, J.W. Polson, and R.A. Dampney. Cardiovascular responses evoked by leptin acting on neurons in the ventromedial and dorsomedial hypothalamus. *Hypertension*, 42(4):488–493, 2003.
- [48] C.B. Matthew. Ambient temperature effects on thermoregulation and endurance in anticholinesterase-treated rats. *Life Sciences*, 52(16):1343–1349, 1993.
- [49] M. Monda, A. Sullo, and B. De Luca. Lesions of ventromedial hypothalamus reduce postingestional thermogenesis. *Physiology and Behaviour*, 61(5):687–691, 1997.
- [50] M. Monda, A. Sullo, V. De Luca, and A. Viggiano. Ibotenate lesion of the ventromedial hypothalamus lowers hyperthermic effects of prostaglandin e1. *Physiological Research*, 50(3):321–326, 2001.
- [51] M. Monda, A. Viggiano, and V. De Luca. Functional decortication lowers ventromedial hypothalamic activation induced by hippocampal neostigmine injection. *Cerebral Cortex*, 10(12):1242–1246, 2000.
- [52] M. Monda, A.N. Viggiano, A. Viggiano, E. Viggiano, A. Lanza, and V. De Luca. Hyperthermic reactions induced by orexin a: role of ventromedial hypothalamus. *European Journal of Neuroscience*, 22(5):1169–1175, 2005.
- [53] A. Morimoto, N. Murakami, T. Ono, T. Watanabe, , and Y. Sakata. Stimulation of ventromedial hypothalamus induces cold defense responses in conscious rats. *American Journal of Physiology*, 250(19):R560–R566, 1986.
- [54] N. Murakami and A. Morimoto. Metabolic mapping of the rat brain involved in thermoregulatory responses using the [14c]2-deoxyglucose technique. *Brain Research*, 246:137–140, 1982.
- [55] K. Nagashima, S. Nakai, M. Takana, and K. Kanouse. Neuronal circuitries involved in thermoregulation. *Autonomic Neuroscience*, 85(1-3):18–25, 2000.
- [56] H. Nakao. Emotional behavior produced by hypothalamic stimulation. *American Journal of Physiology*, 194(2):411–418, 1958.

- [57] T. Nakayama and K. Imao-Matsumura. Response of glucose-responsive ventromedial hypothalamic neurons to scrotal and preoptic thermal stimulation in rats. *Neuroscience Letters*, 45(2):129–134, 1984.
- [58] K. Narita, M. Nishihara, and M. Takahashi. Concomitant regulation of running activity and metabolic change by the ventromedial nucleus of the hypothalamus. *Brain Research*, 642(1-2):290–296, 1994.
- [59] K. Narita, T. Yokawa, M. Nishihara, and M. Takahashi. Interaction between excitatory and inhibitory amino acids in the ventromedial nucleus of the hypothalamus in inducing hyper-running. *Brain Research*, 603(2):243–247, 1993.
- [60] E.A. Newsholme, E. Blomstrand, and B. Ekblom. Physical and mental fatigue: metabolic mechanisms and importance of plasma amino acids. *British Medical Bulletin*, 48(3):477–495, 1992.
- [61] B. Nielsen, S. Strange, N.J. Christensen, J. Warberg, and B. Saltin. Acute and adaptive responses in humans to exercise in a warm, humid environment. *European Journal of Physiology*, 434(1):49–56, 1997.
- [62] A. Nijijima, F. Rohner-Jeanrenaud, and B. Jeanrenaud. Role of ventromedial hypothalamus on sympathetic efferents of brown adipose tissue. *American Journal of Physiology*, 247(16):R650–R654, 1984.
- [63] T.D. Noakes. Physiological models to understand exercise fatigue and the adaptations that predict or enhance athletic performance. *Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports*, 10(3):123–145, 2000.
- [64] L. Nybo and B. Nielsen. Hyperthermia and central fatigue during prolonged exercise in humans. *Journal of Applied Physiology*, 91(3):1055–1060, 2001.
- [65] D.S. O’Leary and J.M. Johnson. Baroreflex control of the rat tail circulation in normothermia and hyperthermia. *Journal of Applied Physiology*, 66(3):1234–1241, 1989.
- [66] D.S. O’Leary, J.M. Johnson, and W.F. Taylor. Mode of neural control mediating rat tail vasodilation during heating. *Journal of Applied Physiology*, 59(5):1533–1538, 1985.

- [67] K. Ozawa, H. Miura, T. Tamagawa, Y. Hiyoshi, K. Nonogaki, N. Maeda, G. Watanabe, N. Sakamoto, and A. Iguchi. Intrahypothalamic, but not hippocampal, administration of muscimol suppresses hyperglycemia induced by hippocampal neostigmine in anesthetized rats. *Life Sciences*, 53(25):1903–1909, 1993.
- [68] G. Paxinos and C. Watson. *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Academic Press INC., San Diego, Califórnia, 2nd edition edition, 1986.
- [69] W. Pires, R.B. La Guardia, S.A. Silveira, C.C. Coimbra, U. Marubayashi, L.O.C. Rodrigues, and N.R.V. Lima. Efeitos da injeção intracerebroventricular (icv) de fisostigmina sobre a pressão arterial, frequência cardíaca e a temperatura da cauda de ratos. In *Anais da Reunião Anual da Federação das Sociedades de Biologia Experimental*. CD-ROM., 2004.
- [70] W. Pires, S.P. Wanner, R.B. La Guardia, L.O.C. Rodrigues, S.A. Silveira, U. Marubayashi, C.C. Coimbra, and N.R.V. Lima. Intracerebroventricular physostigmine enhances blood pressure and heat loss in running rats. *Journal of Physiology and Pharmacology*, in press, 2006.
- [71] P.D. Potts, J. Ludbrook, T.A. Gillman-Gaspari, J. Horiuchi, and A.L. Dampney. Activation of brain neurons following central hypervolaemia and hypovolaemia: contribution of baroreceptor and non-baroreceptor inputs. *Neuroscience*, 95(2):499–511, 2000.
- [72] T.N. Prímola-Gomes, S.P. Wanner, S.A. Silveira, L.O.C. Rodrigues, U. Marubayashi, C.C. Coimbra, and N.R.V. Lima. Efeitos da injeção intracerebroventricular de fisostigmina (icv-fis) sobre a termoregulação pós-exercício em ratos. In *Anais da Reunião Anual da Federação das Sociedades de Biologia Experimental*. CD-ROM., 2004.
- [73] E.R. Raman, M.F. Roberts, and V.J. Vanhyuse. Body temperature control of rat tail blood flow. Body temperature control of rat tail blood flow. *American Journal of Physiology*, 245(3):R426–R432, 1983.
- [74] Z.R. Rao, M. Yamano, A. Wanaka, T. Tatehata, S. Shiosaka, and M. Tohyama. Distribution of cholinergic neurons and fibers in the hypothalamus of the rat using choline acetyltransferase as a marker. *Neuroscience*, 20(3):923–934, 1987.

- [75] T. Reilly and N.T. Cable. *Kinanthropometry and exercise physiology laboratory manual tests, procedures and data*. E & FN Spon, 1996.
- [76] A.G. Rodrigues. Efeito da estimulação colinérgica central nas alterações metabólicas de ratos não-treinados durante o repouso ou em exercício físico, 2000. (Dissertação, Mestrado em Ciências Biológicas).
- [77] A.G. Rodrigues, N.R. Lima, C.C. Coimbra, and U. Marubayashi. Intracerebroventricular physostigmine facilitates heat loss mechanisms in running rats. *Journal of Applied Physiology*, 97(1):333–338, 2004.
- [78] L.O.C. Rodrigues, A. Oliveira, N.R. Lima, and C.A. Machado-Moreira. Heat storage rate and acute fatigue in rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 36(1):131–135, 2003.
- [79] L.O.C. Rodrigues and E. Silami-Garcia. *Temais Atuais III em Educação Física e Esportes*, chapter Fadiga: falha ou mecanismo de proteção, pages 29–48. Editora Health, Belo Horizonte, 1998.
- [80] L.O.C. Rodrigues, E. Silami-Garcia, N.R.V. Lima, L.S. Prado, and D.D. Soares. *Temais Atuais VII em Educação Física e Esportes*, chapter Exercício, calor e hidratação: algumas questões em estudo na UFMG, pages 29–48. Editora Health, Belo Horizonte, 2002.
- [81] L.O.C. Rodrigues, E. Silami-Garcia, and D.D. Soares. *Novos conceitos em treinamento esportivo*, chapter Fisiologia da termorregulação: conceitos básicos, pages 7–25. Publicações INDESP, Belo Horizonte, 1999.
- [82] A.A. Romanovsky, A.I. Ivanov, and Y.P. Shimansky. Selected contribution: ambient temperature for experiments in rats: a new method for determining the zone of thermal neutrality. *Journal of Applied Physiology*, 92(6):2667–2679, 2002.
- [83] C.B. Saper, L.W. Swanson, and W.M. Cowam. The efferent connections of the ventromedial nucleus of the hypothalamus of the rat. *Journal of Comparative Neurobiology*, 169(4):409–442, 1976.

- [84] A.J. Scheurink, A.B. Steffens, and L. Benthem. Central and peripheral adrenoceptors affect glucose, free fatty acids, and insulin in exercising rats. *American Journal of Physiology*, 255(4):R547–R556, 1988.
- [85] A.J. Scheurink, A.B. Steffens, and R.P.A. Gaykema. Hypothalamic adrenoceptors mediate sympathoadrenal activity in exercising rats. *American Journal of Physiology*, 259(28):R470–R477, 1990.
- [86] F.G. Shellock and S.A. Rubin. Temperature regulation during treadmill exercise in the rat. *Journal of Applied Physiology*, 57(6):1872–1877, 1984.
- [87] D.H. Silber, L.I. Sinoway, U.A. Leuenberger, and V.E. Amassian. Magnetic stimulation of the human motor cortex evokes skin sympathetic nerve activity. *Journal of Applied Physiology*, 88(1):126–134, 2000.
- [88] J.E. Smith, A.S.P. Jensen, M.P. Gilbey, and A.D. Loewy. Cns cell groups projecting to sympathetic outflow of rat tail artery: neural circuits involved in heat loss in the rat. *Brain Research*, 786(1-2):153–164, 1998.
- [89] D.D. Soares, N.R. Lima, C.C. Coimbra, and U. Marubayashi. Evidence that tryptophan reduces mechanical efficiency and running performance in rats. *Pharmacology and Biochemistry Behavior*, 74(2):357–362, 2003.
- [90] D.D. Soares, N.R. Lima, C.C. Coimbra, and U. Marubayashi. Intracerebroventricular tryptophan increases heating and heat storage rate in exercising rats. *Pharmacology and Biochemistry Behavior*, 78(2):255–261, 2004.
- [91] B. Sonne and H. Galbo. Simultaneous determination of metabolic and hormonal responses, heart rate, temperature and oxygen uptake in running rats. *Acta Physiologica Scandinavica*, 109(2):201–209, 1980.
- [92] S. Stanley, K. Wynne, B. McGowan, and S. Bloom. Hormonal regulation of food intake. *Physiological Reviews*, 85(4):153–164, 2005.
- [93] M. Székely. Skin temperatures - skin blood flow. *Acta Physiologica Hungary*, 68:284–284, 1986.

- [94] H. Tago, P.L. McGeer, G. Bruce, and L.B. Hersh. Distribution of choline acetyltransferase-containing neurons of the hypothalamus. *Brain Research*, 415(1):49–62, 1987.
- [95] A. Takahashi, H. Ishimaru, Y. Ikarashi, E. Kishi, and Y. Maruyama. Hypothalamic cholinergic regulation of body temperature and water intake in rats. *Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical*, 94(1-2):74–83, 2001.
- [96] A. Takahashi, E. Kishi, H. Ishimaru, Y. Ikarashi, and Y. Maruyama. Stimulation of rat hypothalamus by microdialysis with K^+ : increase of ach release elevates plasma glucose. *American Journal of Physiology*, 275(44):R1647–R1653, 1998.
- [97] A. Takahashi, E. Kishi, H. Ishimaru, Y. Ikarashi, and Y. Maruyama. Role of preoptic and anterior hypothalamic cholinergic input on water intake and body temperature. *Brain Research*, 889(1-2):191–199, 2001.
- [98] J. Thornhill, A. Jugnauth, and I. Halvorson. Brown adipose tissue thermogenesis evoked by medial preoptic stimulation is mediated via the ventromedial hypothalamic nucleus. *Canadian Journal Physiology and Pharmacology*, 72(9):1042–1048, 1994.
- [99] J.G.V. Tuig, J. Kerner, and D.R. Romsos. Hypothalamic obesity, brown adipose tissue, and sympathoadrenal activity in rats. *American Journal of Physiology*, 248(11):E607–E617, 1985.
- [100] C.B. Unal, Y. Demiral, and I.H. Ulus. The effects of choline on body temperature in conscious rats. *European Journal of Pharmacology*, 363(2-3):121–126, 1998.
- [101] A.S. Valladao, W.A. Saad, L.A.A. Camargo, A. Renzi, L.A. de Luca Jr., and J.V. Menani. Interaction between cholinergic and adrenergic pathways of the hypothalamic ventromedial nucleus on cardiovascular regulation. *Journal of the Autonomic Nervous System*, 30(6):239–246, 1990.
- [102] A.S. Valladao, W.A. Saad, L.A.A. Camargo, A. Renzi, L.A. de Luca Jr., and J.V. Menani. Av3v lesion reduces the pressor, dipsogenic, and natriuretic responses to ventromedial hypothalamus activation. *Brain Research Bulletin*, 28(6):909–914, 1992.

- [103] T.R. Vilberg and R.E. Keeseey. Reduced energy expenditure after ventromedial hypothalamic lesions in female rats. *American Journal of Physiology*, 247(16):R183–188, 1984.
- [104] V. Vissing, J.L. Wallace, A.J. Scheurink, H. Galbo, and A.B. Steffens. Ventromedial hypothalamic regulation of hormonal and metabolic responses to exercise. *American Journal of Physiology*, 256(25):R1019–1026, 1989.
- [105] M.G. De Vries, M.A. Lawson, and J.L. Beverly. Hypoglycemia-induced noradrenergic activation in the vmh is a result of decreased ambient glucose. *American Journal of Physiology*, 289(4):R977–R981, 2005.
- [106] T.J. Walters, K.L. Ryan, L.M. Tate, and P.A. Mason. Exercise in the heat is limited by a critical internal temperature. *Journal of Applied Physiology*, 89(2):799–806, 2000.
- [107] J. Wang, T. Osaka, and S. Inoue. Orexin-a-sensitive site for energy expenditure localized in the arcuate nucleus of the hypothalamus. *Brain Research*, 971(1):128–134, 2003.
- [108] P. Webb. The physiology of heat regulation. *American Journal of Physiology*, 268(4):R838–850, 1995.
- [109] N.C. Wilson, C.V. Gisolfi, J. Farber, and D.K. Hinrichs. Colonic and tail-skin temperature responses of the rat at selected running speeds. *Journal of Applied Physiology*, 44(4):571–575, 1978.
- [110] N. Yanagiya, R. Yoshimura, M. Hori, M. Kuwahara, H. Tsubone, and S. Sugano. The influence of chronic sympathectomy on cutaneous blood flow in the rat tail. *Journal of Veterinary Medical Science*, 61(7):795–801, 1999.
- [111] T. Yokawa, D. Mitsushima, C. Itoh, H. Konish, K. Shiota, and M. Takahashi. The ventromedial nucleus of the hypoythalamus outputs long-lasting running in rats. *Physiology and Behavior*, 46(4):713–717, 1989.
- [112] T. Yokawa, K. Shiota, and M. Takahashi. Hiper-running activity originating from the hypothalamus is blocked by gaba. *Physiology and Behavior*, 47(6):1261–1264, 1990.

- [113] H. Yoshimatsu, A. Nijima, Y. Oomura, and T. Katafuchi. Lateral and ventromedial hypothalamic influences on hepatic autonomic nerve activity in the rat. *Brain Research Bulletin*, 21(2):239–244, 1988.
- [114] H. Yoshimatsu, Y. Oomura, T. Katafuchi, and A. Nijima. Effects of hypothalamic stimulation and lesion on adrenal nerve activity. *American Journal of Physiology*, 253(22):R418–R424, 1987.
- [115] A.A. Young and N.J. Dawson. Evidence for on-off control of heat dissipation from the tail of the rat. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 60(3):392–398, 1982.
- [116] D. Zhang, M. Ando, F. Yamasaki, and T. Sato. Carotid-sinus baroreflex modulation of core and skin temperature in rats: an open-loop approach. *Japanese Journal of Physiology*, 53(6):461–466, 2003.
- [117] Y.H. Zhang, T. Hosono, M.Y. Fujiwara, X.M. Chen, and K. Kanouse. Effect of midbrain stimulation on thermoregulatory vasomotor responses in rats. *Journal of Physiology*, 503(1):177–186, 1997.