

*Letícia Maria de Souza Cordeiro*

**O sistema serotoninérgico participa da modulação dos  
mecanismos termorregulatórios e do processo de fadiga  
durante o exercício prolongado em ratos**

Belo Horizonte

Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional

Universidade Federal de Minas Gerais

2007

*Letícia Maria de Souza Cordeiro*

**O sistema serotoninérgico participa da modulação dos mecanismos termorregulatórios e do processo de fadiga durante o exercício prolongado em ratos**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências do Esporte da Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências do Esporte.

Orientadora: *Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Danusa Dias Soares*

Co-orientadora: *Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Umeko Marubayashi*

Belo Horizonte

Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional

Universidade Federal de Minas Gerais

2007



Universidade Federal de Minas Gerais  
Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional  
Programa de Pós-Graduação em Ciências do Esporte



Dissertação intitulada “O sistema serotoninérgico participa da modulação dos mecanismos termorregulatórios e do processo de fadiga durante o exercício prolongado em ratos”, de autoria da mestranda Letícia Maria de Souza Cordeiro, defendida em 21 de dezembro de 2007, na Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional da Universidade Federal de Minas Gerais, e submetida à banca examinadora composta pelos professores:

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Danusa Dias Soares  
Departamento de Educação Física  
Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional  
Universidade Federal de Minas Gerais

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Leida Maria Botion  
Departamento de Fisiologia e Biofísica  
Instituto de Ciências Biológicas  
Universidade Federal de Minas Gerais

---

Prof. Dr. Nilo Resende Viana Lima  
Departamento de Educação Física  
Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional  
Universidade Federal de Minas Gerais

Belo Horizonte, 21 de Dezembro de 2007

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 do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), da Coordenação de Pessoal de Nível Superior (CAPES), da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), da Pró-Reitoria de Pesquisa da UFMG.

**Dedico este trabalho ao meu pai (Omar Eustáquio Cordeiro)  
e à minha mãe (Maria Clébia de Souza Cordeiro):**

Vocês foram os amigos mais certos nas horas incertas,  
muitas vezes, pra não dizer todas,  
abriram mão dos seus sonhos para viver os meus.

No meu caminho houve obstáculos,  
e, muitas vezes, tive medo,  
mas vocês, como uma brisa,  
renovavam minhas esperanças.

Erguiam-me e diziam pra eu seguir em frente,  
pois eu conseguiria;

então, meu cansaço se desfazia na fortaleza de vocês  
e meu pranto se abrandava nos seus colos.

Vocês sempre me ensinaram a dar o meu coração,  
pelos meus ideais e sonhos,  
e sempre me mostraram, com exemplos,  
a tentar fazer do mundo um lugar melhor.

“Posso dizer que  
eu não faço questão de ser tudo  
só não quero e não vou ficar muda pra falar de AMOR pra vocês...”

O meu mais sincero e profundo agradecimento a vocês dois pelo amor incondicional,  
pelos exemplos e por me apoiarem sempre!

# AGRADECIMENTOS

À população brasileira, que através de esforços possibilita a educação e as pesquisas nas Universidades Federais.

Aos meus queridos irmãos Omar Júnior e Sandra, cunhados Luciano e Cristiane e, especialmente, meus sobrinhos que são minhas maiores riquezas, João Pedro, Lucas e Júlia: vocês são o meu porto seguro onde minha alma se encontra, onde eu encontro a paz. Foram inúmeras as vezes que vocês me compreenderam apenas com um simples olhar, sem que eu precisasse sussurrar uma única palavra e, com um sorriso me incentivaram a continuar seguindo meus passos. Vocês sempre me ajudaram com presteza para que esse projeto de dissertação se concretizasse. Obrigada por me ajudarem a concretizar esse meu objetivo!

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Danusa Dias Soares que me recebeu de braços abertos como orientanda e me incentivou constantemente durante a minha formação científica, instigando a busca incessante por respostas, vibrando com cada resultado da pesquisa e sempre disposta a esclarecer as minhas dúvidas em relação às dificuldades experimentais. A nossa relação ultrapassou os limites da ciência e desencadeou uma amizade. Os exemplos deixados de força, perseverança, dedicação à família e à ciência e, principalmente, a credibilidade dada para cada aluno me fazem ter a certeza de querer seguir seus passos. Obrigada pela oportunidade, por ter acreditado em mim e por continuar me incentivando a prosseguir na vida acadêmica.

Ao Prof. Dr. Nilo Resende Viana Lima que abriu as portas do LAFISE para mim e me mostrou que a ciência não é exata e nem perfeita, mas tem um significado inestimável para quem a conhece. Obrigada pela amizade, pela disponibilidade em me auxiliar nas atividades acadêmicas e laboratoriais e por ter me ensinado a admirar sempre o benefício da dúvida e do questionamento.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Umeko Marubayashi pela orientação em todas as etapas do projeto, pelo envolvimento na discussão dos resultados da dissertação, pelo carinho com o qual me recebeu, pela disponibilidade e paciência em esclarecer as minhas dúvidas e pelo acesso ilimitado à infra-estrutura do Laboratório de Endocrinologia e Metabolismo do ICB.

Ao Prof. Dr. Luiz Oswaldo Carneiro Rodrigues pela atenção sempre disponibilizada quando solicitada e pelos exemplos de dedicação à ciência.

Ao Prof. Dr. Cândido Celso Coimbra pelo acesso irrestrito ao Laboratório de Endocrinologia e Metabolismo do ICB e pelas importantes considerações relacionadas ao trabalho, que me estimularam a fazer mais perguntas.

À Maria Aparecida Vasconcelos Faria (Cida), técnica do Laboratório de Fisiologia do Exercício, pelo carinho, pelos diálogos e pela prontidão em nos auxiliar a manter a qualidade e organização do LAFISE.

À Janine Costa Ivo, técnica do Laboratório de Endocrinologia e Metabolismo do ICB, pela disposição em me ajudar e por ter me ensinado a técnica de dosagem de glicose e lactato.

Aos funcionários do CEBIO/ICB pelo cuidado com os animais e pela tentativa constante em atender às nossas necessidades.

Aos meus familiares, em especial meu avô (que sempre terá um lugar especial nas minhas recordações), vovó Lourdes, Dinha, Tio Kleber, Tia Heloísa, Tio Gilson, Tio Luciano, Tio Gilberto, Tia Eunice e Verinha: pelas palavras de incentivo, pelo carinho e amor dedicado a mim.

Ao Prof. Dr. Ruy Edmar Ribas que, sem medir esforços, me incentivou a buscar e lutar pelos meus ideais acadêmicos.

Ao José Theobaldo Jr. e a todos do Instituto Yara Tupynambá que me incentivaram e me apoiaram nessa importante etapa da minha vida.

À Stela Chamoni Lages, Giuliana Chamoni Lages, Arina Lima, Soraia Cordeiro, Helena Barreto e Izabela Ribeiro pelas histórias já compartilhadas e as que ainda serão, pelos sonhos divididos e, principalmente, pela AMIZADE e presença constante na minha vida em todos os momentos, dividindo alegrias ou acalmando o meu coração.

Aos amigos e amigas da Nutrição pela amizade, pelo carinho, pelo convívio harmonioso e sempre alegre, por terem acreditado em mim sempre, pela torcida e pelo incentivo, que mesmo a distância se fazem tão presentes.

Aos amigos e amigas da Educação Física, pela amizade, pelo carinho com o qual me acolheram na turma, pelas palavras de incentivo, pelo apoio e pelos diversos momentos de alegria.

À Karin Roberta Espíndola Reis e a toda equipe do MEI pelo carinho, pela amizade, pelas palavras de motivação e pelos ensinamentos de que é indispensável educar com amor e dedicação sempre.

Ao Tadeu Luckeroth pelo carinho, pela atenção incessante, pelas conversas sempre reflexivas, inspiradoras e encorajadoras, pela compreensão, por acreditar nos meus objetivos e por me incentivar incondicionalmente a buscar e lutar por novos sonhos.

Ao Reinaldo Teles Paulinelli Jr. (meu irmãozinho do mestrado) pela amizade, pela presença constante, mesmo quando o seu tempo era escasso, pelo carinho, pela disposição em me ajudar, por me incentivar a buscar cada vez mais o conhecimento e pelo convívio sempre harmonioso e divertido.

Ao Samuel Penna Wanner pela amizade e carinho, pelo incentivo e motivação, pela paciência em ensinar, pelo auxílio nas atividades do laboratório e pelo convívio sempre harmonioso e divertido dentro e fora do laboratório.

À Juliana Bohnen Guimarães pela amizade e pelos momentos divertidos dentro e fora do laboratório, pelas conversas e desabafos, pelas brincadeiras, pela



disponibilidade incessante em ajudar, pelo incentivo e pelo auxílio nas atividades laboratoriais.

À Roberta Borges La Guardia pela amizade, pela ajuda sempre disponibilizada, pelo incentivo, pelas brincadeiras, pelos ensinamentos das técnicas laboratoriais e pelos muitos momentos de alegria compartilhados dentro e fora do laboratório.

À Roberta Maria Miranda, Débora Romualdo e Milene Rodrigues Malheiros pela ajuda nas coletas de dados, pela disposição e presteza em ajudar sempre que necessário, pela amizade, pelo incentivo e pelos momentos divertidos.

À Michele Macedo Moraes e ao Francisco Teixeira Coelho pela amizade, pelos conhecimentos e conversas compartilhados, pelo carinho, pela motivação, pela disposição em ajudar sempre e pelos ótimos momentos de convivência dentro e fora do laboratório.

Ao Washignton Pires que me ensinou a técnica cirúrgica de implante da cânula guia no ventrículo, do sensor de temperatura na cavidade intraperitoneal e da canulação da jugular, pelo convívio agradável, pela amizade e pelos divertidos momentos dentro e fora do laboratório.

Às amigas Ivana Fonseca, Aline Gomes, Mariella Lacerda e Ana Carolina Vimieiro-Gomes pelo carinho, pela amizade e pelas conversas que alcançaram meu coração nos momentos de aflição e que sempre me motivaram e alegraram.

Aos companheiros do Laboratório de Fisiologia do Exercício e do Mestrado: Alison Eduardo Pereira Silva, Jackeline Silva, Bernardo Oliveira, Felipe Gonçalves, Cristiano Lino Monteiro Barros, Flávio de Castro Magalhães, Kenya Paula Moreira Oliveira, Lucas Mortimer, Luciana Madeira, Renata Passos, Thiago Mendes, Liliane Peixoto, Gustavo Peixoto, Daniel Coelho, Thales Nicolau Prímola, Luciano Antonacci.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para que esse trabalho de dissertação fosse realizado.

*O professor é:  
a luz,  
o caminho,  
a esperança,  
a realidade.*

*Assim como pode ser:  
O esquecido,  
o injustiçado,  
o mal remunerado.*

*Daí a nossa realização não  
está em ser lembrado,  
nem em ser homenageado,  
mas é em ver germinar  
nos coraçõezinhos de  
nossos jovens,  
o sentido da fé,  
o respeito aos valores,  
a coragem de transpor obstáculos.*

*E em cada jornada finda,  
a vitória de cada um deles,  
será a somatória de  
nosso triunfo maior.*

Omar Eustáquio Cordeiro  
(O retorno ao Planeta Sonho)  
Belo Horizonte, 1988

# Sumário

## 1 INTRODUÇÃO

1.1 Exercício Físico e Fadiga Aguda .....	19
1.2 Neurotransmissores e Fadiga Aguda .....	21
1.3 Regulação da Temperatura Corporal e Fadiga Aguda .....	25

## 2 OBJETIVOS

2.1 Objetivos geral .....	31
2.2. Objetivos específicos .....	31

## 3 HIPÓTESES

3.1 Hipóteses .....	32
---------------------	----

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Cuidados éticos .....	33
4.2 Animais .....	33
4.3 Tratamento dos animais	
4.3.1 Implante do sensor de temperatura interna na cavidade peritoneal .....	34
4.3.2 Implante da cânula guia no ventrículo cerebral lateral direito .....	34
4.3.3 Protocolo de familiarização ao exercício físico .....	35
4.3.4 Pré-tratamento com injeção de <i>p</i> -CPA ou salina (i.p.) .....	36
4.4 Procedimento experimental	
4.4.1 Injeção no ventrículo cerebral lateral direito .....	38
4.4.2 Protocolo de repouso .....	38
4.4.3 Protocolo de exercício físico até a fadiga .....	39
4.4.4 Decapitação.....	39
4.5 Variáveis medidas	
4.5.1 Tempo total de exercício até a fadiga .....	40
4.5.2 Temperatura intraperitoneal .....	40
4.5.3 Temperatura da cauda .....	41

4.5.4	Peso dos animais .....	41
4.5.5	Temperatura ambiente .....	41
4.5.6	Temperatura no interior da esteira .....	42
4.6.	Variáveis calculadas	
4.6.1	Taxa de acúmulo de calor .....	42
4.6.2	Taxa de elevação da temperatura .....	42
4.6.3	Trabalho .....	43
4.6.4	Índice de dissipação de calor .....	43
4.7	Variáveis analisadas	
4.7.1	Análises das concentrações plasmáticas de glicose e lactato .....	44
4.8	Análise estatística	
4.8.1	Análise estatística .....	44

## 5 RESULTADOS

5.1	Efeitos da paraclorofenilalanina periférica (i.p.) sobre as respostas da temperatura corporal durante o repouso	
5.1.1	Temperatura interna e a da cauda .....	45
5.1.2	Índice de dissipação de calor .....	48
5.2	Efeito da paraclorofenilalanina periférica (i.p.) no desempenho físico e na temperatura corporal	
5.2.1	Tempo total de exercício até a fadiga .....	50
5.2.2	Temperatura interna e a da cauda .....	52
5.2.3	Índice de dissipação de calor .....	55
5.3	Efeito central (i.c.v.) de TRP com e sem injeção periférica (i.p.) de p-CPA sobre a temperatura corporal e o metabolismo durante o repouso	
5.3.1	Temperatura interna e a da cauda .....	57
5.3.2	Índice de dissipação de calor .....	60
5.3.3	Concentração plasmática de glicose e lactato no final do período de repouso .....	62
5.4	Efeito central (i.c.v.) de TRP com e sem injeção periférica (i.p.) de p-CPA no desempenho físico, na temperatura corporal e no metabolismo	
5.4.1	Tempo total de exercício até a fadiga .....	64
5.4.2	Temperatura interna e a da cauda .....	66
5.4.3	Índice de dissipação de calor .....	69

5.4.4 Taxa de acúmulo de calor .....	71
5.4.5 Correlação entre taxa de acúmulo de calor e tempo total de exercício.....	73
5.4.6 Taxa de elevação da temperatura corporal .....	75
5.4.7 Correlação entre taxa de elevação da temperatura corporal e trabalho .....	77
5.4.8 Concentração plasmática de glicose e lactato no momento da fadiga .....	79
<b>6 DISCUSSÃO</b>	
Discussão .....	81
<b>7 CONCLUSÕES</b>	
Conclusões .....	93

## Lista de abreviaturas e siglas

▪ Sistema nervoso central .....	SNC
▪ Serotonina .....	5-HT
▪ Triptofano .....	TRP
▪ Aminoácidos de cadeia ramificada .....	AACR
▪ Dopamina .....	DOPA
▪ Ácidos graxos livres .....	AGL
▪ Ácido 5-hidroxiindoleacético .....	5-HIAA
▪ 5-Hidroxitriptofano .....	5-HTP
▪ Paraclorofenilalanina .....	<i>p</i> -CPA
▪ Monoaminaoxidase .....	MAO
▪ Intraperitoneal .....	i.p.
▪ Ventrículo cerebral lateral direito .....	VCD
▪ Salina .....	SAL
▪ Intracerebroventricular .....	i.c.v.
▪ Tempo total de exercício até a fadiga .....	TTE
▪ Taxa de acúmulo de calor .....	TAC
▪ Taxa de elevação da temperatura corporal .....	TET
▪ Trabalho .....	W
▪ Índice de dissipação de calor .....	IDC
▪ Aproximadamente .....	~

## Lista de tabelas e figuras

▪ Figura 1 – Componentes da hipótese de fadiga central durante exercício prolongado .....	24
▪ Tabela 1 – Média do peso corporal dos animais .....	33
▪ Figura 2 – Protocolo de familiarização e pré-tratamento i.p. ....	36
▪ Figura 3 – Delineamento experimental .....	37
▪ Figura 4 – Protocolo experimental de repouso.....	38
▪ Figura 5- Protocolo experimental de exercício até a fadiga .....	39
▪ Figura 5.1.1- Temperatura interna e a da cauda .....	47
▪ Figura 5.1.2- Índice de dissipação de calor .....	49
▪ Figura 5.2.1- Tempo total de exercício até a fadiga .....	51
▪ Figura 5.2.2- Temperatura interna e a da cauda .....	54
▪ Figura 5.2.3- Índice de dissipação de calor .....	56
▪ Fugura 5.3.1- Temperatura interna e a da cauda .....	59
▪ Figura 5.3.2- Índice de dissipação de calor .....	61
▪ Figura 5.3.3- Concentração plasmática de glicose e lactato no final do período de repouso .....	63
▪ Figura 5.4.1- Tempo total de exercício até a fadiga .....	65
▪ Figura 5.4.2- Temperatura interna e a da cauda .....	68
▪ Figura 5.4.3- Índice de dissipação de calor .....	70
▪ Figura 5.4.4- Taxa de acúmulo de calor .....	72
▪ Figura 5.4.5- Correlação entre taxa de acúmulo de calor e tempo total de exercício .....	74
▪ Figura 5.4.6- Taxa de elevação da temperatura corporal .....	76
▪ Figura 5.4.7- Correlação entre taxa de elevação da temperatura corporal e trabalho .....	78
▪ Figura 5.4.8- Concentração plasmática de glicose e lactato no momento da fadiga .....	80
▪ Figura 6(A) – Mecanismo de ação da 5-HT nas respostas termorregulatórias e no desempenho físico .....	91
▪ Figura 6(B) – Bloqueio do mecanismo de ação da 5-HT nas respostas termorregulatórias e no desempenho físico .....	92

## Resumo

O presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito do aumento da disponibilidade central de triptofano (TRP) nas respostas termorregulatórias e metabólicas e no desempenho físico em ratos durante o exercício até a fadiga, com o pré-tratamento com paraclorofenilalanina (*p*-CPA), inibidor da conversão de TRP a serotonina (5-HT). Foram usados ratos Wistar (250-350g) que, sob anestesia, receberam uma cânula guia no ventrículo cerebral lateral direito (VCD) e implante de um sensor de temperatura. Os animais foram pré-tratados com injeções i.p. de salina (SAL) ou *p*-CPA, durante 3 dias prévios ao experimento. No experimento os animais receberam administração central (VCD) de SAL 0,15 M ou de TRP 20,3  $\mu$ M e foram submetidos a um protocolo de exercício submáximo até a fadiga (18 m.min<sup>-1</sup> e 5% de inclinação;  $\sim$ 66%VO<sub>2max</sub>). Os animais tratados com TRP no VCD e com SAL i.p. apresentaram, em relação ao grupo controle, maiores taxas de acúmulo de calor (4,80  $\pm$  0,94 cal.min<sup>-1</sup> SAL i.c.v. vs. 12,60  $\pm$  2,27 cal.min<sup>-1</sup> TRP i.c.v.; n=7; p=0,01) e de elevação da temperatura corporal (0,02  $\pm$  0,00°C.min<sup>-1</sup> SAL i.c.v. vs. 0,05  $\pm$  0,01°C.min<sup>-1</sup> TRP i.c.v.; n=7; p=0,009), levando assim, a um desempenho físico reduzido (70,74  $\pm$  20,76 min. SAL i.c.v. vs. 22,17  $\pm$  2,45 min. TRP i.c.v.; n=7; p=0,028). Ainda nesse grupo observou-se uma correlação inversa entre a taxa de elevação da temperatura corporal e o trabalho realizado e entre a taxa de acúmulo de calor e o tempo total de exercício até a fadiga. Em relação às respostas metabólicas não foram identificadas diferenças nas concentrações plasmáticas de glicose ou lactato no momento da fadiga. A administração i.p. de *p*-CPA bloqueou o efeito do TRP nas taxas de acúmulo de calor (2,14  $\pm$  1,10 cal.min<sup>-1</sup> SAL i.c.v. vs. 1,33  $\pm$  0,57cal.min<sup>-1</sup> TRP i.c.v.; n=7) e de elevação da temperatura corporal (0,01°C.min<sup>-1</sup> SAL i.c.v. vs. 0,01°C.min<sup>-1</sup> TRP i.c.v.; n=7). Além disso, a administração de *p*-CPA i.p. antecipou os mecanismos de dissipação de calor, uma vez que a temperatura da cauda foi diferente a partir do 4º min. de exercício no grupo tratado com SAL i.c.v. e TRP i.c.v., em relação aos ratos pré-tratados com SAL i.p. Concluímos que o aumento da concentração central de TRP interferiu nos mecanismos de fadiga e na termorregulação durante o exercício, sem influenciar nos ajustes metabólicos e que estas respostas foram moduladas pela via serotoninérgica, uma vez que as ações do TRP foram inibidas na presença da *p*-CPA, inibidora da



enzima triptofano hidroxilase. Os dados sugerem ainda um efeito *per si* do TRP nos mecanismos de dissipação de calor durante o exercício.

Palavras chaves: exercício, termorregulação, triptofano, *p*-CPA, ratos

## Abstract

The purpose of the present study was to evaluate the effect of increased central tryptophan (TRP) availability on thermoregulation and metabolic responses and also on physical performance in rats submitted to exercise until fatigue with or without pre-treatment with parachlorophenylalanine (*p*-CPA), an inhibitor of TRP conversion to serotonin (5-HT). Adult male Wistar rats (250-350g) were used. Intraperitoneal temperature sensors and brain guide cannulae on right lateral cerebral ventricle (RLCV) were implanted under anesthesia. During three days before the experiment, animals were pre-treated with i.p. injections of saline (SAL) or *p*-CPA. In the day of the experiment, animals were pre-treated with i.p. injections of either SAL (0,15M) or TRP (20,3 $\mu$ M) and underwent a sub maximal exercise until fatigue (18 m.min<sup>-1</sup> and 5% grade; 66%VO<sub>2max</sub>). The i.c.v. TRP-treated rats who received SAL i.p. showed higher heat storage rate (4,80  $\pm$  0,94cal.min<sup>-1</sup> SAL i.c.v. vs. 12,60  $\pm$  2,27cal.min<sup>-1</sup> TRP i.c.v.; n=7; p=0,01) and also the rate of body temperature increase (0,02  $\pm$  0,00 $^{\circ}$ C.min<sup>-1</sup> SAL i.c.v. vs. 0,05  $\pm$  0,01 $^{\circ}$ C.min<sup>-1</sup> TRP i.c.v.; n=7; p=0,009) than control group, eliciting to a decrease on exercise time to fatigue (70,74  $\pm$  20,76 min. SAL i.c.v. vs. 22,17  $\pm$  2,45 min. TRP i.c.v.; n=7; p=0,028). Moreover, we also found inverse correlations between the rate of body temperature increase and work produced and between heat storage rate and exercise time to fatigue. No differences were found either on plasma glucose or lactate concentrations at fatigue point. The i.p. treatment with *p*-CPA blocked the effect of TRP on the rate of body temperature increase (0,01  $^{\circ}$ C.min<sup>-1</sup> SAL i.c.v. vs. 0,01  $^{\circ}$ C.min<sup>-1</sup> TRP i.c.v.; n=7) and also on heat storage rate (2,14  $\pm$  1,10cal.min<sup>-1</sup> SAL i.c.v. vs. 1,33  $\pm$  0,57 cal.min<sup>-1</sup> TRP i.c.v.; n=7). Besides that, the *p*-CPA administration anticipated heat dissipation both in the SAL i.c.v. and TRP i.c.v. rats when compared to i.p. SAL treated rats, since 6<sup>th</sup> minute of exercise their tail skin temperature was already different from basal. We concluded that the elevated central TRP concentration interfered both on thermoregulation and fatigue mechanisms, without modifying metabolic responses of exercising rats. These responses were modulated by serotonergic pathways, since TRP-induced actions were blocked in the presence of *p*-CPA, a tryptophan hydroxylase inhibitor. Our data also suggest an effect of the TRP *per se* on the heat dissipation mechanisms during exercise.

Keywords: tryptophan, exercise, thermoregulation, rats, *p*-CPA

# **1 Introdução**

## **1.1 Exercício físico e fadiga**

A homeostase corporal, durante o exercício físico é mantida através da interação e integração de diversos sistemas que se ajustam de forma dependente das condições ambientais, do perfil nutricional e, também, da intensidade e duração do exercício físico. O sistema nervoso central (SNC) integra e ajusta informações aferentes provenientes dos diversos sistemas corporais e desencadeia respostas imediatas nos períodos que antecedem o início do esforço físico (pré-alimentação) e durante o esforço físico (retro-alimentação) mantendo a homeostase corporal (GALBO, 1985). Durante o exercício físico há um aumento na demanda energética dos músculos ativos e os ajustes hormonais e metabólicos promovem um fornecimento adequado de substratos para o organismo.

A interrupção voluntária do exercício físico, descrita como fadiga, consiste na incapacidade de um indivíduo ou do animal permanecer por mais tempo realizando um exercício numa determinada intensidade e duração (SOARES e cols., 2003; 2004; 2007; RODRIGUES e SILAMI-GARCIA, 1998).

Segundo Rodrigues e Silami-Garcia (1998) a fadiga é explicada através de um modelo de limites integrados. Nesse modelo, a fadiga resulta de um sistema multifatorial e integrado no qual diversos fatores (temperatura corporal, equilíbrio ácido-básico e hidroeletrolítico, fluxo sanguíneo, ventilação pulmonar, atividade neural e disponibilidade de substratos) podem promover a interrupção do exercício. Ainda, de acordo com esse modelo, dependendo das condições ambientais e da intensidade e duração do exercício, assim como do estado nutricional do indivíduo, um determinado sistema pode se sobrepor em relação a outros e, conseqüentemente promover a interrupção voluntária do esforço físico. Para Kayser (2003) a decisão voluntária de iniciar ou interromper o esforço físico é determinada pelo SNC, uma vez que, tanto a ativação como a inativação do recrutamento das fibras motoras é proveniente de comandos motores descendentes.

Ao contrário do proposto por MaClaren e cols. (1989), em que a fadiga era vista como um mecanismo de falha no sistema, atualmente ela tem sido descrita como um mecanismo de proteção aos animais ou aos humanos. Durante o exercício físico o SNC interrompe ou reduz a intensidade do esforço como mecanismo de segurança, para impedir que o limite dos ajustes fisiológicos de qualquer um dos sistemas envolvidos com a manutenção da atividade física seja ultrapassado, mantendo assim a homeostase corporal (MARINO, 2004; RODRIGUES e SILAMI-GARCIA, 1998; NEWSHOLME e cols., 1992).

Cabe salientar que os mecanismos que envolvem a exaustão são distintos daqueles que envolvem o processo de fadiga. Na exaustão o mecanismo de proteção é rompido e o indivíduo ou o animal ao permanecer realizando o exercício físico ultrapassa os próprios limites fisiológicos, podendo ocasionar sérios danos ao organismo, inclusive risco de morte, principalmente por hipertermia (HUBBARD e cols., 1976). Em animais de experimentação, a exaustão decorrente do exercício é observada após a interrupção do esforço físico e o animal ao ser colocado em decúbito dorsal é incapaz de apresentar reflexo de endireitamento, não retornando à posição ventral (HUBBARD e cols., 1976).

A fadiga tem sido classificada na literatura como periférica, a qual é proveniente de alterações neuro-musculares (HUNTER e cols., 2004), enquanto que, a central está relacionada a alterações nas concentrações de neurotransmissores no SNC, entre eles a serotonina (5-HT) (NEWSHOLME e cols., 1987). Contudo, essa descrição se dá apenas por questões didáticas, uma vez que a fadiga é determinada pelo SNC.

De acordo com Newsholme e cols. (1992), para o desencadeamento da fadiga são enumeradas cinco causas de origem metabólicas: (1) depleção da concentração de fosfocreatina muscular; (2) acúmulo de prótons no músculo; (3) depleção de glicogênio no músculo; (4) redução na concentração plasmática de glicose e (5) aumento na concentração plasmática de triptofano (TRP) livre em relação aos aminoácidos de cadeia ramificada (AACR). As três primeiras causas estão diretamente relacionadas com o músculo e as duas últimas, envolvem diretamente o SNC.

## 1.2 Neurotransmissores centrais e fadiga

O exercício físico prolongado induz alterações na síntese e metabolismo de monoaminas cerebrais. Assim mudanças nas concentrações de neurotransmissores centrais, como a 5-HT (SOARES e cols., 2003; 2004; 2007; NEWSHOLME, 1987) e a dopamina (DOPA) (MEEUSEN e cols., 2006; BAILEY e cols., 1993) parecem participar do desencadeamento da fadiga.

Dentre os neurotransmissores, a DOPA tem sido investigada como um possível modulador do processo de fadiga, uma vez que atua no controle do movimento (DAVIS e BAILEY, 1997; MEEUSEN e DE MEIRLEIR, 1995). Utilizando manipulações farmacológicas que alteram a atividade serotoninérgica central, Bailey e cols. (1993) mostraram que a interação entre os sistemas serotoninérgicos e dopaminérgicos parece ser determinante da instalação da fadiga durante o exercício prolongado.

Os primeiros resultados que indicaram a participação do sistema serotoninérgico no processo da fadiga durante o exercício físico foram evidenciados por Chaouloff e cols. (1985; 1986). Nesse estudo foi observado, em ratos, um aumento na concentração plasmática de ácidos graxos livres (AGL) causado por um exercício de intensidade moderada ( $20 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$ ), durante uma hora, na esteira rolante associado com um aumento na concentração de TRP tanto no plasma, quanto no SNC e, conseqüentemente de 5-HT no SNC. Além disso, os autores também observaram um aumento significativo na concentração de ácido 5-hidroxiindoleacético (5-HIAA), metabólito da 5-HT. Esses resultados mostraram que o exercício provocou um aumento na síntese e na degradação de 5-HT.

O primeiro estudo a mostrar, em ratos, o aumento da concentração de TRP cerebral após a natação até a exaustão foi realizado por Barchas e Freedman (1963) (em BLOMSTRAND, 2006). Denizeau e Sourkes (1977) forneceram evidências que o TRP altera a concentração de 5-HT no SNC e, demonstraram em preparações de tecidos hipotalâmicos ou de sinaptossomas que há uma correlação direta entre o conteúdo endógeno de 5-HT e a atividade dos mecanismos de transporte do TRP.

Newsholme e cols. (1987) propuseram a hipótese da fadiga tendo a 5-HT como moduladora da mesma, uma vez que esse neurotransmissor provoca sonolência, letargia e alterações de humor. Desde então, investigações

experimentais envolvendo manipulações farmacológicas ou nutricionais têm sido freqüentemente realizadas para determinar o possível papel da 5-HT na fadiga (BÉQUET e cols., 2002; GOMEZ-MERINO e cols., 2001; CALDERS e cols., 1997). Bailey e cols. (1992; 1993) verificaram em ratos durante exercício na esteira rolante a 20 m.min<sup>-1</sup> e 5% de inclinação, que a administração intraperitoneal de agonista da 5-HT (m-clorophenil-piperazine, m-CPP) reduziu o desempenho físico (~32%), enquanto, a de antagonista da 5-HT (LY 53857) aumentou a duração do mesmo (~28%). Esses autores mostraram que a determinação da fadiga durante um exercício prolongado pode ser modificada pela administração de drogas que modificam a concentração de 5-HT e que os mecanismos que a desencadeia são de origem central.

A via serotoninérgica origina-se de células localizadas principalmente no núcleo da rafe do mesencéfalo e possuem projeções ascendentes para o hipocampo, hipotálamo, córtex cerebral e corpo estriado. Outros neurônios serotoninérgicos se projetam para o bulbo e para a medula espinhal (CHAOULOFF, 1989).

A biossíntese de 5-HT envolve a hidroxilação do precursor, o aminoácido TRP, sendo a triptofano hidroxilase a enzima que catalisa essa reação e que constitui a etapa limitante da síntese. Em função da sua baixa afinidade com o substrato, a concentração de TRP presente nos neurônios que produzem a 5-HT não é suficiente para saturar a enzima. Em condições fisiológicas a atividade da enzima triptofano hidroxilase não é saturável e a concentração de TRP livre no plasma é o principal determinante da síntese de 5-HT (FADDA, 2000; CHAOULOFF e cols., 1985; FERNSTROM e WURTMAN, 1972).

Em condições fisiológicas, a concentração plasmática de TRP total é de aproximadamente (~) 21,15 µg/mL, sendo que ~1,23 µg/mL se encontra na forma livre (KNOTT e CURZON, 1972). A concentração de TRP cerebral é de ~2,26 µg/g, enquanto que, a de 5-HT e de 5-HIAA é de ~0,53 µg/g e ~0,42 µg/g, respectivamente (KNOTT e CURZON, 1972). A elevação da concentração de TRP cerebral é uma resposta direta ao aumento de TRP livre no plasma e, geralmente qualquer condição que aumente a sua concentração plasmática conseqüentemente a aumentará no SNC, assim como a biossíntese de 5-HT cerebral (STRÜDER e WEICKER, 2001; FERNSTRON e WURTMAN, 1972). Em condições livres de

estresse, o TRP se encontra na corrente sanguínea ligado à albumina (~90% do TRP total) e também na forma livre (~10% do TRP total) (PITSILADIS e cols., 2002; DAVIS e cols., 2000).

O aumento na disponibilidade central de TRP é influenciado por alterações nas concentrações plasmáticas de AGL e de AACR (leucina, isoleucina e valina) (STRÜDER e WEICKER, 2001; DAVIS e cols., 2000; NEWSHOLME e cols., 1992). Durante o exercício prolongado há um aumento da atividade simpática que promove um aumento na concentração plasmática de catecolaminas que estimulam a lipólise. Os triglicerídeos armazenados nos adipócitos são hidrolisados em glicerol e AGL. Os AGL difundem-se para a corrente sanguínea e se fixam à albumina plasmática deslocando assim, a molécula de TRP, aumentando a fração livre desse aminoácido na circulação (DAVIS e cols., 2000; CHAOULOFF e cols., 1989) (Figura 1). Os AGL ligados à albumina plasmática são transportados para os tecidos ativos, onde são metabolizados para o fornecimento de energia (WEICKER e STRÜDER, 2001; DAVIS e cols., 2000).

Portanto, o exercício físico prolongado induz um aumento na concentração plasmática de TRP livre, estimulando a entrada de TRP para o SNC através da barreira hematoencefálica e, assim, provoca um aumento na síntese de 5-HT. Além disso, estudos têm demonstrado que a administração de TRP aumenta a concentração de TRP e 5-HT cerebral (CHAOULOFF, 1997).

Recentemente, Fernstrom e Fernstrom (2006) sugeriram que se deva considerar a possibilidade da relação entre as concentrações cerebrais de TRP e a síntese e liberação de 5-HT não ser tão direta, uma vez que durante o exercício nem todos os neurônios serotoninérgicos podem estar ativados e assim, provavelmente, podem não responder da mesma forma ao aumento da concentração de TRP. Além disso, estudos com animais têm confirmado que o exercício prolongado aumenta a concentração de 5-HT em diferentes áreas cerebrais (SOARES e cols., 2007; BAILEY e cols., 1993; BLOMSTRAND e cols., 1989; CHAOULOFF, 1989). A análise das alterações da concentração de 5-HT e de 5-HIAA cerebral após exercício prolongado tem mostrado diferenças regionais, sugerindo que o sistema serotoninérgico não responde de forma uniforme ao exercício (SOARES e cols., 2007; BAILEY e cols., 1993; BLOMSTRAND e cols., 1989; CHAOULOFF, 1989).

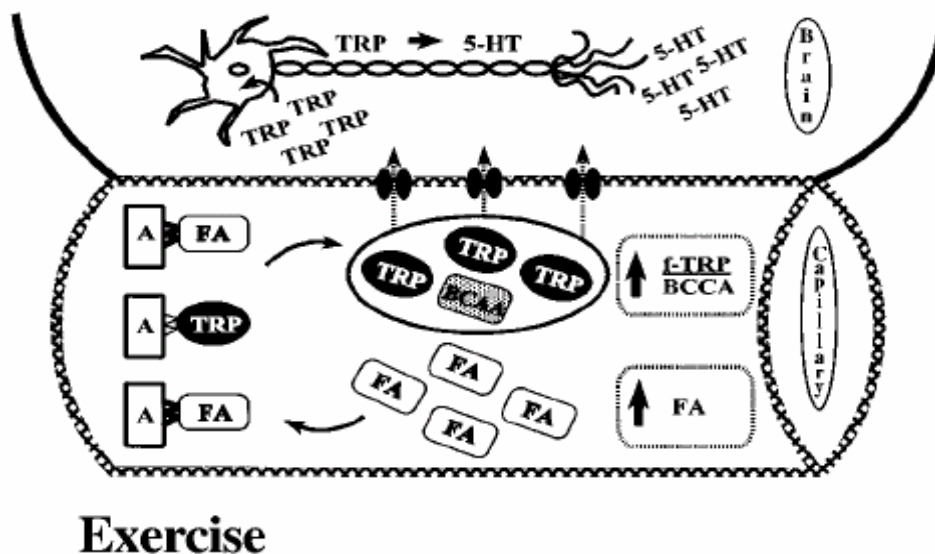


Figura 1- Componentes da Hipótese de Fadiga Central durante o exercício prolongado. BCAA, amino ácido de cadeia ramificada; FA, ácido graxo; f-TRP, triptofano livre; 5-HT, 5-hydroxytriptamina (serotonina); TRP, triptofano. Davis e cols., 2000.

Por outro lado, um aumento na oxidação de AACR para atender às demandas energéticas dos músculos esqueléticos, durante um exercício físico prolongado, ocasiona um aumento na concentração plasmática de TRP livre em relação à de AACR (BLOMSTRAND e cols., 1989).

O transporte do TRP livre no plasma através da barreira hematoencefálica se dá via sistema L-transportador, que é o mesmo para os AACR. Dessa forma, com um aumento na relação TRP livre/AACR há uma predominância do transporte de TRP para o cérebro com conseqüente aumento na síntese e liberação de 5-HT (DAVIS e cols., 2000; BLOMSTRAND e cols., 1989) (Figura 1).

Como o TRP compete com o AACR pelo transporte através da barreira hematoencefálica, a redução na concentração plasmática de TRP em relação aos AACR através do fornecimento exógeno dos AACR, tem sido sugerida como prática para atenuação da fadiga, uma vez que reduziria a síntese de 5-HT (MEEUSEN e cols., 2006).

Um estudo realizado com ratos mostrou que o tratamento intraperitoneal com AACR, prévio ao exercício, aumentou o tempo total de corrida até a exaustão (158 min. AACR x 118 min. controle) (CALDERS e cols., 1997). Entretanto, há



evidências de que a suplementação com AACR em humanos não melhora o desempenho físico quando o exercício é realizado em ambientes quentes (PAULINELLI-Jr., 2007; WATSON e cols., 2004).

Em relação ao possível efeito ergolítico dos AACR no desempenho físico durante exercício até a fadiga têm-se observado resultados conflitantes. Quando administradas em doses elevadas, os AACR podem levar a um aumento na concentração de amônia que induziria a antecipação da fadiga. Assim, existem dúvidas quanto à suplementação de AACR como um recurso nutricional apropriado para evitar a antecipação do desenvolvimento da fadiga (DAVIS e cols., 2000).

### **1.3 Regulação da temperatura corporal e fadiga**

A termorregulação pode ser definida como o controle da temperatura do corpo em diversas condições ambientais, e essa regulação se dá pelo controle do ganho de calor e da perda de calor entre o corpo e o ambiente através da utilização de mecanismos autonômicos e comportamentais (GORDON, 1993).

Numa perspectiva evolutiva, os mecanismos de regulação da temperatura corporal são fundamentais para a sobrevivência das espécies, uma vez que a temperatura ambiente é provavelmente o principal determinante do processo de seleção de *habitat* das diferentes espécies (GORDON, 1993). 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 nível mais baixo, que provoca o congelamento dos líquidos corporais, e o mais alto, que resulta na desnaturação das proteínas celulares (HOAR, 1966; RODRIGUES e cols., 1999).

O hipotálamo é o centro responsável pela regulação da temperatura corporal e funciona como um termostato, mantendo a temperatura corporal entre  $37 \pm 1$  °C. O sistema termorregulatório apresenta quatro componentes: (1) receptores térmicos (feedback); (2) neurônios integrativos e de controle do SNC (comparador); (3) mecanismos efetores de produção de calor, conservação e de dissipação de calor (controladores) e (4) temperaturas internas e da pele (sistema passivamente controlado) (GORDON, 1993).

Dessa forma, variações na temperatura corporal são percebidas por receptores periféricos que enviam sinais aferentes para o SNC, e os receptores localizados no próprio hipotálamo detectam estas modificações através da temperatura do sangue. Então, o hipotálamo integra essas informações e compara a diferença da temperatura corporal com o ponto de referência (*set-point*) e, assim, desencadeia respostas eferentes para regulação da temperatura interna. Se houver aumento da temperatura corporal, ajustes sistêmicos são ativados para aumentar a perda de calor com uma resposta termolítica, através da vasodilatação e da sudorese, enquanto que, no caso de redução da temperatura interna produz-se uma resposta termogênica, com vasoconstrição e tremor (RODRIGUES e cols., 1999).

A temperatura corporal nos seres humanos, durante o repouso, varia em função do ambiente, do horário do dia, do local da medida, da idade dos indivíduos, do estado hormonal, da relação entre o volume e a superfície corporal, da composição corporal e da ingestão de alimentos (STITT, 1993; RODRIGUES e cols., 1999).

A área pré-óptica tem sido descrita como a principal região do SNC envolvida na termorregulação (SOARES e cols., 2007; LIN e cols., 1998; GORDON, 1993; SANTOS e cols., 1991; COIMBRA e MIGLIORINI, 1988). Essa região integra os sinais térmicos provenientes dos receptores periféricos e dos centrais e coordena a regulação da temperatura corporal (GORDON, 1993).

A regulação da temperatura corporal durante o exercício físico é um importante fator no desencadeamento do processo de fadiga (RODRIGUES e cols., 2003; RODRIGUES e cols., 1999; GONZALEZ-ALONSO e cols., 1999; FULLER e cols., 1998; GORDON, 1993). O exercício físico provoca um aumento na temperatura corporal, uma vez que com o aumento da taxa metabólica para atender as demandas energéticas dos músculos ativos, há um desequilíbrio entre os mecanismos de produção e de dissipação de calor, sendo que esse equilíbrio tende a se restabelecer. As variações na temperatura corporal promovidas pelo exercício físico são dependentes da intensidade e da duração da atividade, bem como da temperatura ambiente (SHELLOCK e RUBIN, 1984). Os homens ou animais são capazes de termorregular eficientemente durante o exercício em uma faixa considerável de condições ambientais, mas a regulação da temperatura corporal fica comprometida durante o exercício em ambiente quente (MARINO, 2004); assim, o

desempenho físico é reduzido quando realizado em ambientes quentes (RODRIGUES e cols., 2003; GONZALEZ-ALONSO e cols., 1999).

A 5-HT tem sido descrita como um dos principais neurotransmissores envolvidos na mediação da regulação dos mecanismos de produção e dissipação de calor pelo hipotálamo (ISHIWATA e cols., 2001; SCHWARTZ e cols., 1995).

Estudos têm evidenciado respostas controversas sobre o efeito da administração de 5-HT sobre a temperatura interna e essas diferenças variam com a espécie animal, a via de administração (central ou periférica), a dose empregada e a temperatura ambiente utilizadas nos protocolos experimentais (MYERS, 1981; FRANCESCONI e MAGER, 1974).

A administração intracerebroventricular de 5-HT em camundongos e em ratos produziu uma resposta hipotérmica (YAMADA e cols., 1988), enquanto, em gatos, promoveu hipertermia (FELDBERG e MYERS, 1965). Por sua vez, Lin e cols. (1998) verificaram em ratos não anestesiados que o aumento da concentração hipotalâmica de 5-HT estava associado a uma resposta hipertérmica, conseqüente ao aumento na produção de calor e à redução nos mecanismos de dissipação de calor.

A 5-HT é um potente ativador da termogênese e suas ações provavelmente resultam de um aumento da atividade simpática no tecido adiposo marrom, estimulando a termogênese não induzida pelo tremor em ratos (SERRA e cols., 1992; LE FEUVRE e cols., 1991). Contudo, os mecanismos exatos, através dos quais a 5-HT modifica a regulação da temperatura corporal, ainda não estão bem definidos na literatura.

A ação do TRP *per se*, de forma independente da via da 5-HT, aumentando a termogênese não induzida pelo tremor, foi evidenciada por um estudo de Serra e cols. (1992), no qual ratos tratados com injeção central desse aminoácido apresentaram aumento do consumo de oxigênio durante o repouso. Esses dados sugerem o envolvimento de diferentes mecanismos através do qual o TRP pode participar do controle da termogênese não induzida pelo tremor.

Por sua vez, Soares e cols. (2003) mostraram, em ratos não treinados, durante exercício submáximo na esteira rolante (18 m.min<sup>-1</sup> e 5% de inclinação) que o aumento da disponibilidade central de TRP reduziu o tempo total de exercício até a fadiga (~70%) e diminuiu a eficiência mecânica em relação ao grupo controle. Essa redução no desempenho físico nos animais tratados com TRP está relacionada com

o aumento tanto da taxa de acúmulo de calor, quanto da taxa de elevação da temperatura corporal. Além disso, esses autores mostraram que essas taxas foram inversamente proporcionais ao tempo total de exercício (SOARES e cols., 2004). Os autores sugeriram que o aumento da temperatura interna dos ratos foi devido tanto ao aumento na produção de calor quanto a uma falha nos mecanismos de dissipação de calor (SOARES e cols., 2003; 2004).

Ainda não estão totalmente esclarecidos quais são os fatores térmicos determinantes da interrupção do exercício físico. Existem controvérsias se a fadiga seria desencadeada a partir de uma temperatura interna crítica (WALTERS e cols., 2000; GONZALEZ-ALONSO e cols., 1999; FULLER e cols., 1998) ou se é devida à variação da temperatura interna ao longo do tempo, isto é, à taxa de acúmulo de calor (SOARES e cols., 2004; RODRIGUES e cols., 2003) ou por ambas.

Walters e cols. (2000), em um estudo utilizando ratos, observou que os animais alcançaram a exaustão na temperatura hipotalâmica e retal de 42,1°C e 42,4°C, respectivamente, independente da temperatura inicial antes do exercício. Contudo, no estudo realizado por Fuller e cols. (1998), no qual os animais foram submetidos a um exercício de corrida na esteira rolante a 15 m.min<sup>-1</sup> e 10% de inclinação, a temperatura hipotalâmica no momento da fadiga foi de 40,2 ± 0,4°C.

Por outro lado, Rodrigues e cols. (2003), em um estudo realizado em nosso laboratório, utilizando ratos que foram submetidos a diferentes velocidades de corrida até a fadiga (21 e 24 m.min<sup>-1</sup>) e a diferentes temperaturas ambientes (18°C, 23,1°C e 29,4°C), observaram que o desenvolvimento da fadiga foi proporcional à intensidade do exercício e ao estresse térmico ambiental. Além disso, observaram que a fadiga foi inversamente relacionada à taxa de acúmulo de calor e que a temperatura interna dos animais no final do exercício foi diferente entre as situações experimentais.

Os estudos sobre as alterações da atividade neuronal induzidas pelo TRP na síntese de 5-HT ainda não estão esclarecidos. Há poucas evidências sobre a mesma e elas envolvem abordagens farmacológicas com a finalidade de bloquear a recaptação de 5-HT (GALLAGER e AGHAJANIAN, 1975) ou reduzir o acúmulo de 5-hidroxitriptofano (5-HTP) (FERNSTROM e cols., 1990). Koe e Weissman (1966) demonstraram que a paraclorofenilalanina (*p*-CPA) é um potente e seletivo depletor de 5-HT cerebral para ratos, camundongos e cães. Esse composto não inibe a monoaminaoxidase (MAO), sugerindo então que ele depleta a 5-HT, via bloqueio da

triptofano hidroxilase, enzima que atua na etapa limitante da biossíntese desse neurotransmissor, inibindo-a (KOE e WEISSMAN, 1966).

Evidências farmacológicas têm demonstrado que o bloqueio mais eficiente da síntese de 5-HT se dá a partir da inibição da enzima triptofano hidroxilase, uma vez que a inibição da enzima piruvato descarboxilase não impede que haja formação de 5-HT proveniente do precursor 5-HTP a partir da ativação de neurônios dopaminérgicos (JACKSON e WIGHTMAN, 1995).

O tratamento intraperitoneal com *p*-CPA em ratos durante três dias consecutivos na dose de 100 mg.kg<sup>-1</sup>.dia<sup>-1</sup> reduziu para ~11% a concentração de 5-HT cerebral em relação aos valores basais, enquanto o tratamento na dose de 316 mg.kg<sup>-1</sup>.dia<sup>-1</sup> reduziu para ~7% (KOE e WEISSMAN, 1966).

Um dos mecanismos propostos para ação da *p*-CPA é: (1) a substância é um inibidor competitivo da enzima triptofano hidroxilase e (2) causa uma redução quase completa da atividade da enzima triptofano hidroxilase, em função da inatividade irreversível da enzima (JÉQUIER e cols., 1967). Segundo Lima e cols. (2004) a *p*-CPA é um aminoácido modificado que compete com o TRP pelo mesmo transportador nos neurônios serotoninérgicos. Em adição, depois da captação neuronal, a *p*-CPA inibe irreversivelmente a enzima triptofano hidroxilase.

Tem sido sugerido uma leve redução nas concentrações das catecolaminas e da DOPA no SNC com a utilização da *p*-CPA (KOE e WEISSMAN, 1966). Contudo, em uma investigação mais recente, reduções nas concentrações centrais de noradrenalina e de DOPA não foram observadas em ratos tratados com injeção intraperitoneal de *p*-CPA na dose de 150 mg.kg<sup>-1</sup>, mas sim com uma dose de 1500 mg.kg<sup>-1</sup> (DRINGENBERG e cols., 1995).

A substância *p*-CPA tem sido utilizada como uma das manipulações farmacológicas para estudar a contribuição específica do sistema serotoninérgico no controle da temperatura corporal (GIACCHINO e cols., 1983). Esses autores demonstraram que ratos em repouso, previamente tratados com *p*-CPA (300 mg.kg<sup>-1</sup> de peso corporal) quando expostos a ambiente quente (~32°C), apresentaram dificuldades em dissipar calor. Seus resultados sugerem que esse composto inibiu os mecanismos de perda de calor e mostram a participação do sistema serotoninérgico nesse processo. Enquanto isso, Sharma e cols. (1996) verificaram que ratos pré-tratados com *p*-CPA, administrado intraperitonealmente, durante 3 dias consecutivos com a dose de 100 mg.kg<sup>-1</sup> de peso corporal, quando submetidos a

natação por 30 minutos, com a água mantida a 30°C apresentaram redução na temperatura retal ( $31,56 \pm 0,43^{\circ}\text{C}$ ) em relação ao grupo controle ( $36,86 \pm 0,23^{\circ}\text{C}$ ). Esse resultado pode ter se dado por uma redução na produção ou por um aumento no índice de dissipação de calor. Assim, em ratos, a *p*-CPA tem provocado diferentes efeitos nas respostas termorregulatórias (GIACCHINO e cols., 1983), provavelmente devido a diferenças metodológicas.

O entendimento da participação do TRP *per se* no processo da fadiga, bem como na termorregulação, ainda requer estudos para esclarecer o papel dos distintos neurônios serotoninérgicos durante o exercício e sua responsividade à disponibilidade aumentada do referido aminoácido.

## **2 Objetivos**

### **2.1 Objetivo Geral**

Verificar se o TRP injetado centralmente modula *per si* (independente do sistema serotoninérgico) as respostas termorregulatórias e o desempenho físico durante exercício submáximo até a fadiga em ratos não treinados.

### **2.2 Objetivos Específicos**

2.2.1 Investigar em ratos não treinados os efeitos do aumento da disponibilidade central de TRP:

- nas respostas termorregulatórias durante o repouso e nas metabólicas no final do período de repouso;
- no desempenho físico e nas respostas termorregulatórias durante o exercício até a fadiga e nas metabólicas no momento da fadiga.

2.2.2 Investigar em ratos não treinados tratados com paraclorofenilalanina os efeitos do aumento da disponibilidade central de TRP:

- nas respostas termorregulatórias durante o repouso e nas metabólicas no final do período de repouso;
- no desempenho físico e nas respostas termorregulatórias durante o exercício até a fadiga e nas metabólicas no momento da fadiga.

### **3 Hipóteses**

H<sub>0</sub>: o TRP *per si*, injetado centralmente, interfere no sistema termorregulatório e nos mecanismos de fadiga durante o exercício, independente da via serotoninérgica.

H<sub>1</sub>: o TRP *per si*, injetado centralmente, não interfere no sistema termorregulatório e nos mecanismos de fadiga durante o exercício independente da via serotoninérgica.



## 4 Material e métodos

### 4.1 Cuidados éticos

Todos os procedimentos obedeceram aos Princípios Éticos da Experimentação Animal estabelecidos pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Minas Gerais (CETEA/UFMG – protocolo nº82/2006; ANEXO 1). Além disso, os procedimentos foram submetidos à aprovação do Colegiado de Pós-Graduação da Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional (EEFFTO/UFMG).

### 4.2 Animais

Foram utilizados ratos Wistar (*Mus norvegicus albinis*) adultos, pesando entre 250-350 g, provenientes do Centro de Bioterismo do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais (CEBIO/UFMG).

Os animais foram mantidos coletivamente em caixas de polietileno até o momento da cirurgia. A sala onde os animais eram mantidos apresentava temperatura controlada de  $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , sob um ciclo claro-escuro de 14:10 horas, sendo as luzes acesas às 5h e apagadas às 19h. Os ratos tiveram livre acesso à ração granulada (Labina) e água.

Animais submetidos ao repouso			Animais submetidos ao exercício		
SAL i.p.	Peso Corporal (g)	EPM	SAL i.p.	Peso Corporal (g)	EPM
SAL i.c.v.	310,25	4,68	SAL i.c.v.	299,92	13,85
TRP i.c.v.	297,50	6,85	TRP i.c.v.	288,00	7,78
<i>p</i> -CPA i.p.	Peso Corporal (g)	EPM	<i>p</i> -CPA i.p.	Peso Corporal (g)	EPM
SAL i.c.v.	341,63	19,11	SAL i.c.v.	302,50	5,18
TRP i.c.v.	321,75	7,86	TRP i.c.v.	306,93	4,33

Tabela 1: Média do peso corporal dos animais.

## **4.3 Tratamento dos animais**

### **4.3.1 Implante do sensor de temperatura interna na cavidade peritoneal**

Para realização dos procedimentos cirúrgicos os animais foram anestesiados com Xilasina e Ketamina, no volume de 0,125mL/100g de peso corporal, via intraperitoneal (i.p.).

Os animais foram posicionados em decúbito dorsal e fixados em uma mesa cirúrgica com o auxílio de esparadrapo. Em seguida, foi feita a tricotomia da região abdominal e assepsia da área. Foi realizada uma incisão ventral de aproximadamente 2 cm, seguida de outra incisão sobre a linha alba no músculo abdominal para a inserção do sensor de temperatura interna na cavidade peritoneal. Finalizado o implante do sensor de temperatura interna, o peritônio e a pele foram suturados.

Foram usados sensores de temperatura interna (Mini-Mitter, Sunriver, OR, USA, série 300VMFH, peso de 2,2 g), os quais possibilitaram a medida da temperatura intraperitoneal por meio de telemetria. Os sensores tinham as baterias de lítio (3V) e eram vedados com parafina inerte e previamente calibrados com precisão de 0,01 °C.

### **4.3.2 Implante da cânula guia no ventrículo cerebral lateral direito (VCD)**

Ainda sob o efeito do anestésico Xilasina e Ketamina os animais receberam um implante de cânula guia no VCD.

Os animais foram posicionados na mesa cirúrgica em decúbito frontal e foi realizada a tricotomia da porção superior da cabeça, seguida de assepsia da área referida e, em seguida, foi feita uma incisão longitudinal na pele e no tecido subcutâneo. Foi aplicado um anestésico local (xilocaína com vasoconstritor, solução

de cloridrato de lidocaína 2% e de adrenalina 1:2000000; na dose de 0,1mL) para provocar vasoconstrição da área.

Após a exposição da calota craniana os animais foram fixados em um estereotáxico para animais de pequeno porte (Insight Equipamentos – modelo ETX3/99, SP, Brasil) para a introdução da cânula guia (22G e 16 mm de comprimento) no VCD. Foram utilizadas as coordenadas do atlas de De Groot (1959): 1,5 mm posterior ao bregma (ântero-posterior); 2,5 mm a partir da linha mediana (látero-lateral); 3,0 mm a partir da dura máter.

Utilizando-se uma broca odontológica (Maxi-Oto, Brasil) foram feitas as craniotomias para a implantação da cânula guia no VCD (DE GROOT, 1959) e para a fixação de parafusos de relojoeiro. O correto posicionamento da cânula guia no VCD foi verificado pelo deslocamento de uma coluna de solução salina contida numa pipeta de 1 mL (ANTUNES-RODRIGUES e MCCANN, 1970).

Para a fixação da cânula guia utilizou-se cimento odontológico autopolimerizável (Dental Vip, São Paulo, Brasil) apoiado nos parafusos de relojoeiro presos na calota craniana. Para evitar a obstrução da cânula guia, essa foi ocluída com um mandril de nylon de 16 mm de comprimento.

Finalizado os procedimentos cirúrgicos os animais receberam uma dose de antibiótico (48.000U – Pentabiótico Veterinário Pequeno Porte, via intramuscular) no volume de 0,1 mL em cada pata traseira e uma dose de analgésico (Banamine Injetável, 1,1 mg/kg de peso corporal, via intramuscular) no volume de 0,1 mL em uma das patas traseiras. Após o término dos procedimentos cirúrgicos os animais retornaram ao biotério e foram mantidos em gaiolas individuais até recuperar o peso pré-cirúrgico.

### **4.3.3 Protocolo de familiarização ao exercício físico**

Após o período de recuperação dos procedimentos cirúrgicos (5 a 7 dias) foi iniciado o protocolo de familiarização na esteira rolante para animais de pequeno porte (Columbus Instruments, OH, USA, Modular treadmill, série 96002-2) durante 5 dias consecutivos.

Os animais foram colocados na esteira rolante, localizada dentro de uma câmara ambiental com temperatura controlada de 24°C e 50% U.R.A., e permaneciam em repouso durante 5 minutos, em seguida, era iniciada uma corrida durante 5 minutos, numa velocidade constante de 18 m.min<sup>-1</sup> e 5% de inclinação.

Nos dois últimos dias desse protocolo, antes de iniciar o período de repouso, um sensor de temperatura foi fixado com esparadrapo na pele da cauda para que os animais se familiarizassem com o mesmo.

#### 4.3.4 Pré-tratamento com injeção de *p*-CPA ou salina (i.p.)

O pré-tratamento foi realizado nos três dias finais do protocolo de familiarização, após a pesagem dos animais e antes de iniciar o protocolo de familiarização na esteira rolante. Os animais receberam uma injeção intraperitoneal de solução salina (SAL, 0,15M: 0,5mL/100g de peso corporal/3dias) ou de solução de DL-*p*-chlorophenylalanine (*p*-CPA) (Sigma - USA) na dose de 100 mg/kg de peso corporal/3dias (SHARMA e cols., 1996), dissolvido em solução salina (0,5 mL/100g de peso corporal) (KOE e WEISSMAN, 1966).

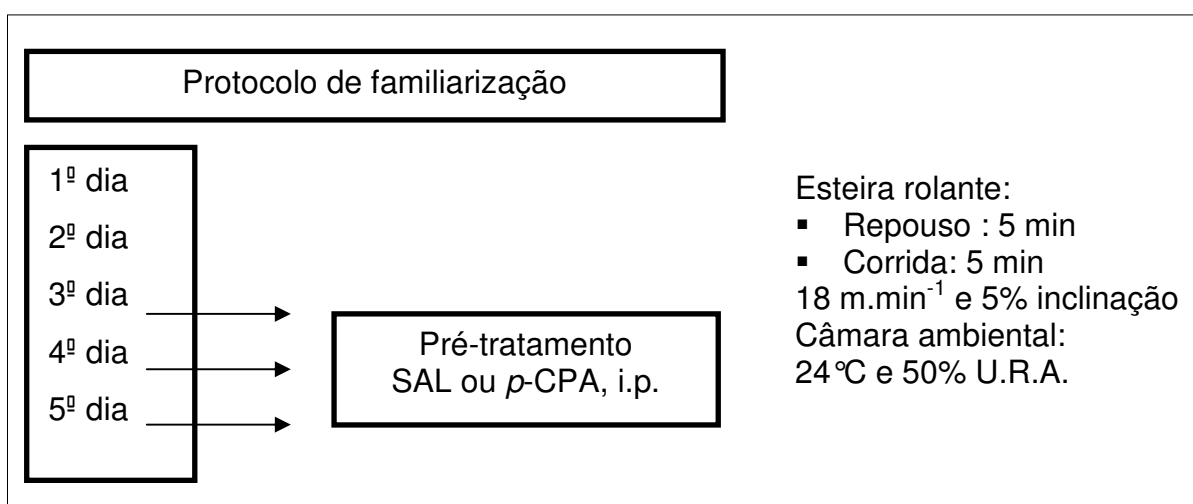


Figura 2: Protocolo de familiarização e pré-tratamento intraperitoneal

## 4.4 Procedimento Experimental

O protocolo experimental foi dividido em duas situações experimentais com duas subdivisões dentro de cada grupo. Os animais foram inicialmente divididos em dois grupos no qual receberam pré-tratamento intraperitoneal durante 3 dias consecutivos de: (A) solução salina (0,5mL/100g/3dias) ou (B) paraclorofenilalanina (*p*-CPA; 100mg/kg/3dias).

No experimento, os animais foram aleatoriamente selecionados para receberem microinjeção intracerebroventricular (i.c.v.) de solução salina (SAL) ou de solução de L-triptofano (TRP). No momento antes da microinjeção o tratamento foi sorteado, entretanto, o procedimento experimental não foi velado. Após a injeção central os animais foram submetidos ao protocolo de exercício até a fadiga ou ao protocolo de repouso durante 90 minutos.

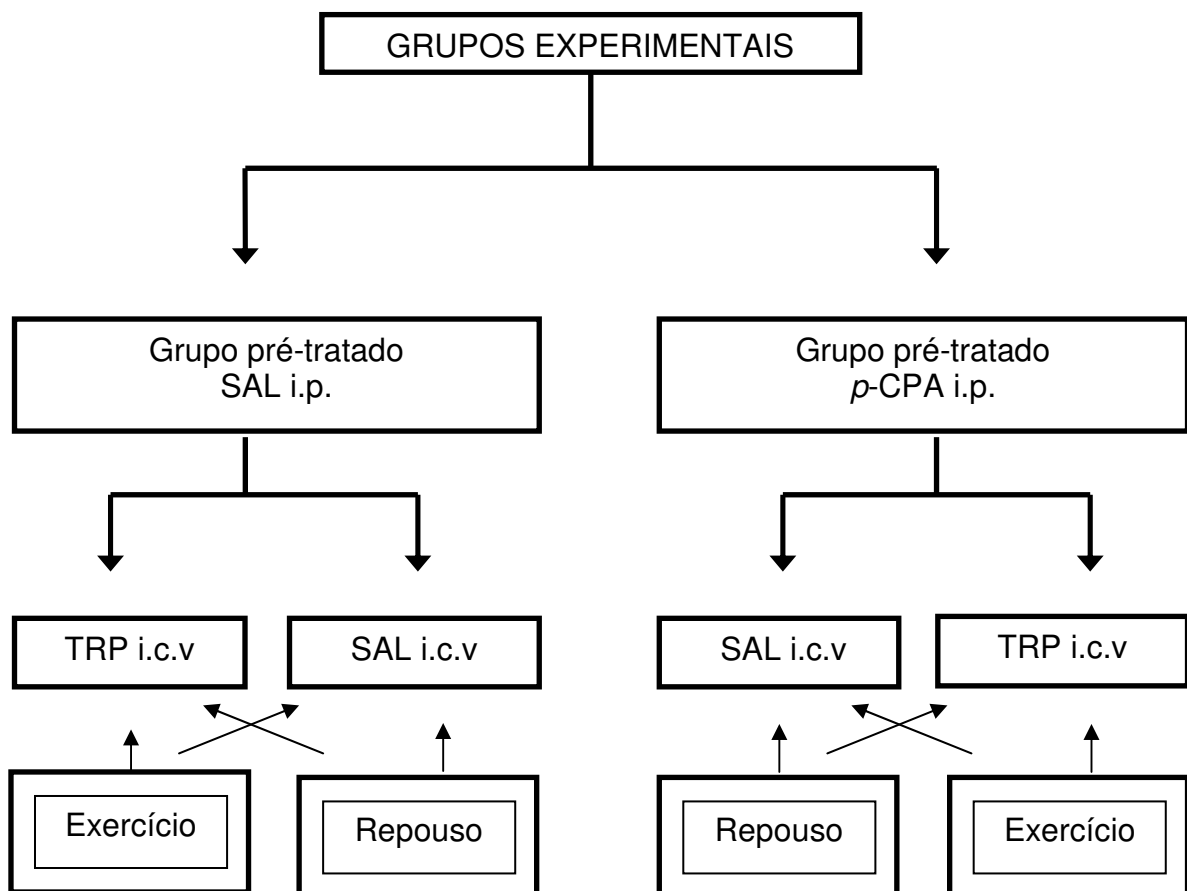


Figura 3: Delineamento Experimental

#### 4.4.1 Injeção no ventrículo cerebral lateral direito (VCD)

No experimento, os animais foram retirados do biotério, pesados e levados para a câmara ambiental com temperatura controlada de 24 °C e 50% U.R.A.

O sensor de temperatura de pele foi fixado com auxílio de esparadrapo na porção proximal da pele da cauda e, os animais foram colocados numa gaiola de polietileno para o registro das variáveis termorregulatórias antes do início da injeção central. Em seguida, foi inserido através da cânula guia uma agulha injetora (16,5 mm) que estava conectada por meio de um tubo de polietileno (PE10) a uma microseringa de 5 µL (Hamilton Company, Nevada, EUA). O volume injetado no VCD foi de 2 µL de solução de L-triptofano (TRP; 20,3 µM) (Sigma, St. Louis, EUA) ou de solução Salina (SAL; 0,15M). A administração das soluções no VCD foi realizada durante 1 minuto, de forma lenta, para evitar a elevação da pressão hidrostática local e a cânula injetora foi mantida por mais 1 minuto para permitir a difusão da solução.

#### 4.4.2 Protocolo de Repouso

Imediatamente após o término da injeção central os animais foram colocados na esteira rolante e foram submetidos ao repouso durante 90 minutos. Os experimentos foram realizados entre 12h e 18h em uma câmara ambiental com temperatura controlada de 24 °C e 50% U.R.A.

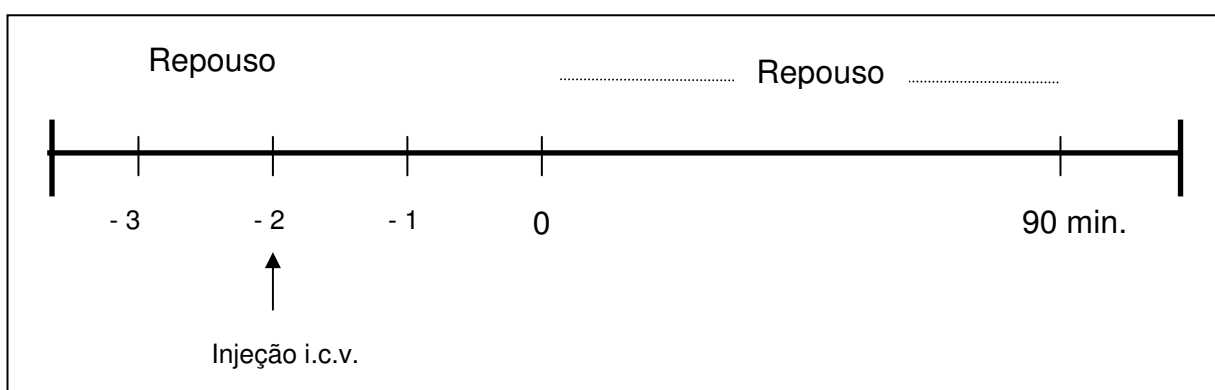


Figura 4: Protocolo Experimental de repouso

#### 4.4.3 Protocolo de Exercício Físico até a Fadiga

Imediatamente após o término da injeção central os animais foram colocados na esteira rolante e foram submetidos a um exercício de corrida numa velocidade constante de  $18 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$  e 5% de inclinação, correspondente a uma intensidade de  $\sim 66\%$  do  $\text{VO}_{2\text{max}}$ . (SOARES e cols., 2003; 2004; 2007; HUSSAIN e cols., 2001; BROOKS e WHITE, 1978).

O exercício físico foi realizado até a fadiga, sendo esta considerada como o momento no qual os animais foram incapazes de manter o ritmo de passada na esteira rolante e, conseqüentemente, permaneceram por mais de 10 segundos na grade do choque (5mA) (SOARES e cols., 2003; 2004; 2007; PIRES e cols., 2007). Os experimentos foram realizados entre 12h e 18h em uma câmara ambiental com temperatura controlada de  $24^\circ\text{C}$  e 50% U.R.A.

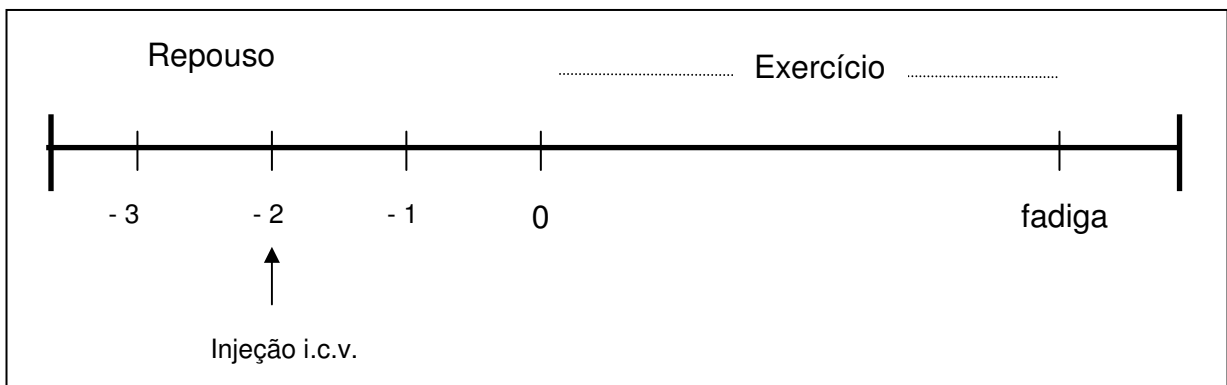


Figura 5: Protocolo Experimental de exercício até a fadiga

#### 4.4.4 Decapitação

Finalizado o protocolo de exercício até a fadiga os animais foram imediatamente removidos da esteira rolante e sacrificados por decapitação em uma guilhotina (Insight).

O cérebro foi removido e imediatamente imerso em solução salina resfriada e as áreas cerebrais (A) hipocampo; (B) hipotálamo; (C) córtex pré-frontal; (D) área preóptica foram rapidamente retiradas, identificadas e colocadas em *ependorfs* de

1,5 mL (SOARES e cols., 2007). As áreas cerebrais foram armazenadas inicialmente em nitrogênio líquido e, em seguida, transferidas para um freezer a  $-80^{\circ}\text{C}$ , para posterior análise das concentrações de neurotransmissores centrais. Após a defesa da dissertação as amostras cerebrais serão analisadas pelo método de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).

O sangue proveniente da decapitação foi coletado num tubo de ensaio heparinizado e armazenado em gelo e, em seguida, transferidos para *eppendorffs* de 1,5 mL. Foi utilizada uma centrífuga refrigerada (SIGMA, 230v, 50/60Hz) e o sangue foi centrifugado durante 20 minutos, a  $5^{\circ}\text{C}$  e em uma velocidade de 3.600 rpm. O plasma foi retirado e armazenado em *eppendorffs* de 1,5 mL num freezer a  $-20^{\circ}\text{C}$  para posterior análise bioquímica do mesmo.

## **4.5 Variáveis medidas**

### **4.5.1 Tempo total de exercício até a fadiga (TTE; min.)**

O tempo total de exercício (TTE; min.) foi determinado pelo tempo de corrida dos animais na esteira rolante numa velocidade constante de  $18 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$  e 5% de inclinação até o momento da fadiga.

Para a medida do TTE utilizou-se um cronômetro com precisão de 0,01 segundos e esse foi expresso em minutos.

### **4.5.2 Temperatura intraperitoneal (Tint.; $^{\circ}\text{C}$ )**

A temperatura intraperitoneal foi utilizada como indicativo da temperatura interna e foi registrada por um sensor de temperatura implantado na cavidade peritoneal dos animais.

Os sensores de temperatura transferiram as variações de frequência por telemetria para uma placa receptora AM (modelo RA 1000 TH, Mini Mitter Co.)



posicionada ao lado da esteira rolante. Essa placa, conectada a um computador, enviou os sinais para um “software” específico (Vita View, Mini-Mitter) que converteu as medidas de frequência em medidas de temperatura intraperitoneal e armazenou os registros de temperatura, realizados em intervalos de 15 segundos.

#### **4.5.3 Temperatura da cauda (T<sub>c</sub>; °C)**

O sensor de temperatura de pele (Yellow Spring Instruments – YSI, Dayton, EUA, modelo 409B) foi afixado na porção do terço proximal da pele da cauda dos animais com esparadrapo impermeável. O termossensor foi conectado a um teletermômetro de temperatura (YSI, modelo 400A) e o registro da temperatura da cauda foi realizado em intervalos de 30 segundos.

#### **4.5.4 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 mesmos durante os experimentos.

#### **4.5.5 Temperatura ambiente (°C)**

Em todas as situações experimentais a temperatura e a umidade relativa do ar da câmara ambiental (Russels®) foram controladas e foram mantidas em 24°C e 50% U.R.A.

A escolha da temperatura ambiente e da umidade relativa do ar teve a finalidade de reproduzir as condições ambientais de estudos prévios realizado por Soares e cols. (2003; 2004; 2007).

#### **4.5.6 Temperatura no interior da esteira (°C)**

A temperatura seca no interior da esteira rolante foi medida a cada minuto da situação experimental, através de um termistor (YSI) acoplado a um teletermômetro e afixado na parte superior da esteira com esparadrapo impermeável.

### **4.6 Variáveis calculadas**

#### **4.6.1 Taxa de acúmulo de calor (TAC; cal.min<sup>-1</sup>)**

A taxa de acúmulo de calor (TAC) foi calculada:

$$TAC = (\Delta T_{int}/TTE).m.ce$$

Sendo:

$\Delta T_{int}$  = variação da temperatura interna ( $T_{final}-T_{inicial}$ ) (°C);

TTE = tempo total de exercício até a fadiga (min);

m = peso corporal (g);

ce = calor específico dos tecidos do animal (0,826 cal.g<sup>-1</sup>.°C<sup>-1</sup>).

#### **4.6.2 Taxa de elevação da temperatura corporal (TET; °C.min<sup>-1</sup>)**

A taxa de elevação da temperatura foi calculada:

$$TET = \Delta T_{int}/TTE$$

sendo:

$\Delta T_{int}$  = variação da temperatura interna ( $T_{final}-T_{inicial}$ ) (°C);

TTE = tempo total de exercício até a fadiga (min).

### 4.6.3 Trabalho (W; Kgm)

O trabalho foi calculado como:

$$W = m \cdot TTE \cdot v \cdot \text{sen}\alpha$$

sendo:

m = peso corporal (g);

TTE = tempo total de exercício até a fadiga (min).

v = velocidade da esteira rolante (18 m.min<sup>-1</sup>)

sen $\alpha$  = inclinação da esteira

### 4.6.4 Índice de dissipação de calor (IDC)

O índice de dissipação de calor 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 e foi calculado como:

$$\text{IDC} = \frac{T_{\text{cauda}} - T_{\text{seca}}}{T_{\text{interna}} - T_{\text{seca}}}$$

Sendo:

T<sub>cauda</sub> = temperatura da pele da cauda (°C)

T<sub>interna</sub> = temperatura interna (°C)

T<sub>seca</sub> = temperatura da esteira (°C)

## **4.7 Variáveis analisadas por método enzimático**

### **4.7.1 Análise das concentrações plasmáticas de glicose e lactato**

Para determinação das concentrações plasmáticas de glicose (mmol/L) e lactato (mmol/L) foi utilizado o método enzimático da glicose oxidase e da lactato oxidase (Glucose Analyser YSI 300 Plus).

## **4.8 Análise estatística**

### **4.8.1 Análise estatística**

Na análise dos resultados foi utilizada uma análise de variância, seguida de post-hoc Newman Keuls, para verificação das diferenças nas temperaturas internas e nas caudas e nos índices de dissipação de calor ao longo do tempo e entre os grupos.

Para verificação das diferenças entre os grupos em relação as concentrações plasmáticas de glicose e de lactato e para a verificação das diferenças nos tempos totais de exercício até a fadiga, nos trabalhos, nas taxas de acúmulo de calor e nas taxas de elevação da temperatura corporal entre os grupos foi utilizado o teste-*t* de Student.

Foi utilizada análise de regressão linear para verificação de correlações entre a taxa de acúmulo de calor e o tempo total de exercício e entre a taxa de elevação da temperatura corporal e o trabalho produzido.

Os resultados foram expressos como valores médios  $\pm$  EPM (erro padrão da média).

## 5 Resultados

### 5.1 Efeito da paraclorofenilalanina periférica (i.p.) sobre as respostas de temperatura corporal durante o repouso

#### 5.1.1 Temperatura interna e a da cauda

A figura 5.1.1 apresenta os valores médios da temperatura interna (°C) (painel superior) e da temperatura da cauda (°C) (painel inferior) após a injeção intracerebroventricular de 2 µL de 0,15 M de salina (SAL) (A) ou de 20,3 µM de L-triptofano (TRP) (B) em ratos pré-tratados com injeções intraperitoneais de solução salina (0,5mL/100g/3dias) ou de paraclorofenilalanina (*p*-CPA; 100mg/Kg/3dias) durante o repouso.

Nas curvas de evolução temporal das temperaturas internas e nas das caudas, os valores representados no gráfico correspondem ao período de repouso na esteira rolante. Por sua vez, os dados das temperaturas internas e das caudas são representados a cada 5 min. da leitura.

#### Figura 5.1.1 (A)

Imediatamente antes da injeção central não foram observadas diferenças entre as duas situações experimentais na temperatura interna ( $38,05 \pm 0,08^\circ\text{C}$  *p*-CPA i.p. vs.  $37,72 \pm 0,11^\circ\text{C}$  SAL i.p.; n=4) e na temperatura da cauda ( $26,41 \pm 0,20^\circ\text{C}$  *p*-CPA i.p. vs.  $26,47 \pm 0,79^\circ\text{C}$  SAL i.p.; n=4).

A partir do 10<sup>o</sup> min. do repouso a temperatura interna elevou-se em relação ao minuto zero no grupo controle (SAL i.p.) ( $38,53 \pm 0,27^\circ\text{C}$  aos 10 min. vs.  $37,93 \pm 0,15^\circ\text{C}$  no 0 min.; n=4;  $p \leq 0,05$ ). Entretanto, no grupo pré-tratado intraperitonealmente com *p*-CPA a temperatura interna não se modificou ao longo tempo ( $38,57 \pm 0,13^\circ\text{C}$  aos 90 min. vs.  $38,10 \pm 0,11^\circ\text{C}$  no 0 min.; n=4). Não foram observadas diferenças na temperatura interna entre as duas situações experimentais durante o repouso.

A temperatura da cauda não foi modificada durante o repouso tanto no grupo pré-tratado intraperitonealmente com solução salina ( $25,44 \pm 0,47^{\circ}\text{C}$  aos 90 min. vs.  $25,92 \pm 0,59^{\circ}\text{C}$  no 0 min.;  $n=4$ ), quanto nos animais pré-tratados intraperitonealmente com *p*-CPA ( $25,95 \pm 0,64^{\circ}\text{C}$  aos 90 min. vs.  $26,39 \pm 0,13^{\circ}\text{C}$  no 0 min.;  $n=4$ ). Apenas no 25<sup>o</sup> min. a temperatura da cauda foi diferente entre os dois grupos.

#### Figura 5.1.1 (B)

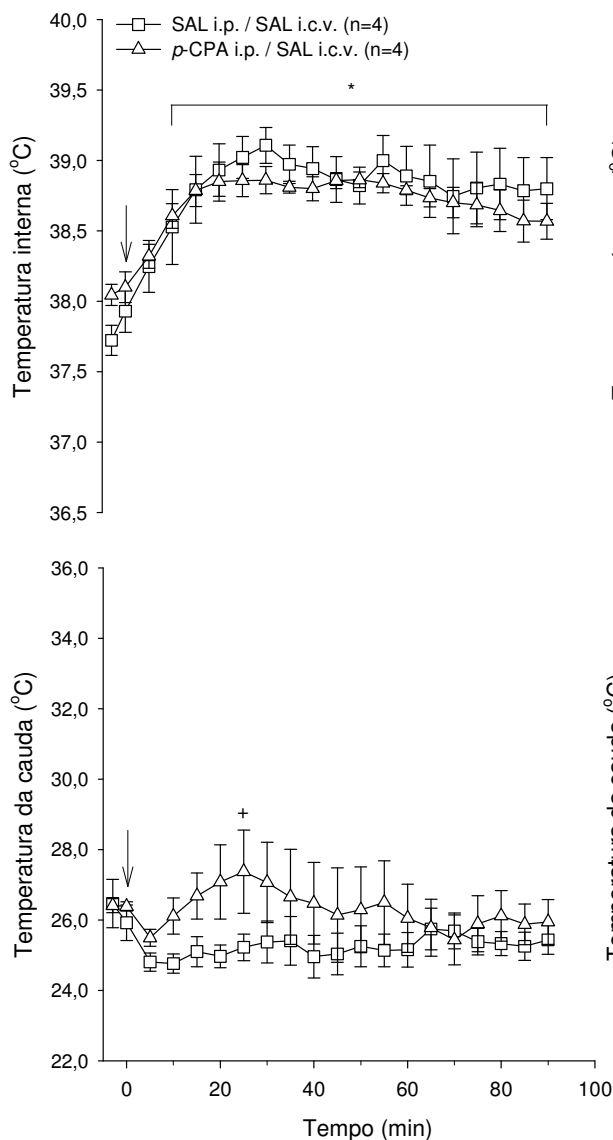
Imediatamente antes da injeção não foram observadas diferenças entre as duas situações experimentais na temperatura interna ( $37,67 \pm 0,31^{\circ}\text{C}$  *p*-CPA i.p. vs.  $37,83 \pm 0,19^{\circ}\text{C}$ ; SAL i.p.;  $n=4$ ) e na temperatura da cauda ( $25,86 \pm 0,48^{\circ}\text{C}$  *p*-CPA i.p. vs.  $26,78 \pm 0,40^{\circ}\text{C}$  SAL i.p.;  $n=4$ ).

A temperatura interna não se alterou ao longo do tempo em nenhum dos grupos estudados ( $38,56 \pm 0,10^{\circ}\text{C}$  aos 90 min. vs.  $37,83 \pm 0,19^{\circ}\text{C}$  no 0 min.; SAL i.p.;  $n=4$  e  $38,15 \pm 0,49^{\circ}\text{C}$  aos 90 min. vs.  $37,73 \pm 0,25^{\circ}\text{C}$  no 0 min.;  $n=4$ ; *p*-CPA i.p.). Além disso, não foram identificadas diferenças na temperatura interna entre as duas situações experimentais ao longo do período de repouso.

Os animais pré-tratados intraperitonealmente com solução salina ou *p*-CPA não apresentaram modificações na temperatura da cauda ao longo do período de repouso ( $25,16 \pm 0,21^{\circ}\text{C}$  aos 90 min. vs.  $26,67 \pm 0,24^{\circ}\text{C}$  no 0 min.; SAL i.p.;  $n=4$  e  $27,65 \pm 0,28^{\circ}\text{C}$  aos 90 min. vs.  $25,97 \pm 0,26^{\circ}\text{C}$  no 0 min.;  $n=4$ ; *p*-CPA).

Contudo, a temperatura da cauda foi maior na situação *p*-CPA i.p./TRP i.c.v. comparada com a situação SAL i.p./TRP i.c.v. a partir do 15<sup>o</sup> min. e manteve-se assim até o término do período de repouso.

(A)



(B)

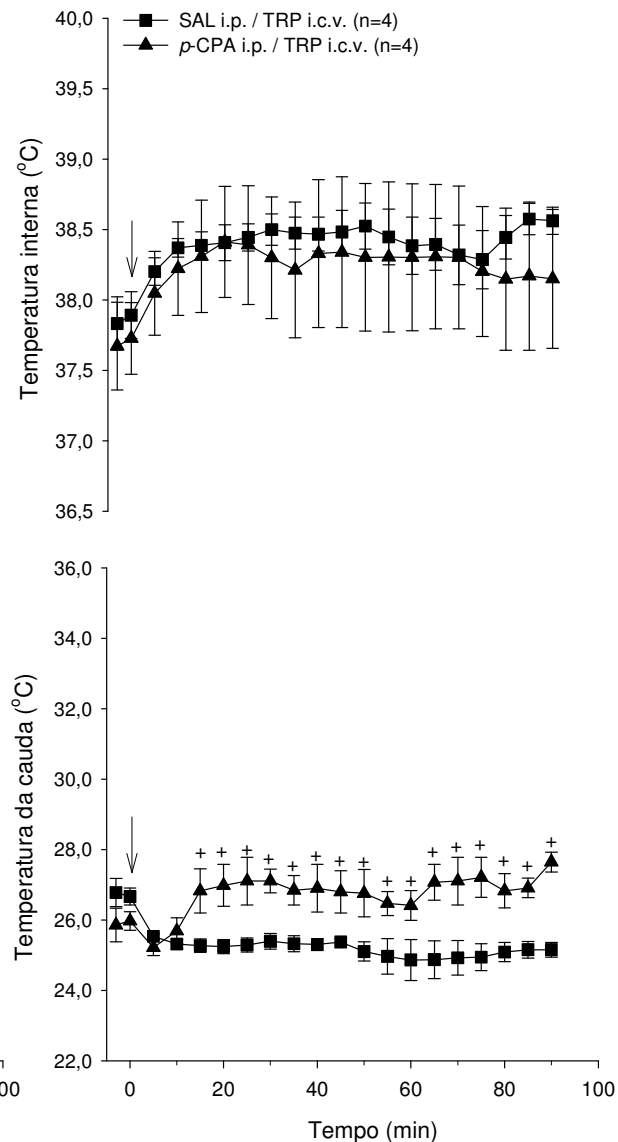


Figura 5.1.1 Efeito da injeção i.c.v. de 2 $\mu$ L de 0,15 M de SAL (A) ou de 20,3  $\mu$ M TRP (B) sobre a temperatura interna (°C) e a temperatura da cauda (°C) de ratos não treinados, durante o repouso, pré-tratados i.p. com SAL ou *p*-CPA. A seta (↓) indica o início do período de repouso. Os dados expressam média  $\pm$  EPM. \* diferença em comparação ao início do repouso ( $p \leq 0,05$ ); + diferença em comparação à situação SAL i.p. ( $p \leq 0,05$ ).

### 5.1.2 Índice de dissipação de calor

A figura 5.1.2 apresenta os valores médios do índice de dissipação de calor após a injeção intracerebroventricular de 2  $\mu$ L de 0,15 M de salina (SAL) (A) ou de 20,3  $\mu$ M de L-triptofano (TRP) (B) em ratos pré-tratados com injeções intraperitoneais de solução salina (SAL; 0,5mL/100g/3dias) ou de paraclorofenilalanina (*p*-CPA; 100mg/Kg/3dias) durante o repouso.

Na curva de evolução temporal do índice de dissipação de calor os valores representados no gráfico correspondem ao período de repouso na esteira rolante. Por sua vez, os dados do índice de dissipação de calor são representados a cada 5 min. da leitura.

#### Figura 5.1.2 (A)

Os animais pré-tratados intraperitonealmente com salina ou *p*-CPA não apresentaram modificações no índice de dissipação de calor ao longo do período de repouso após a injeção central de SAL ( $0,05 \pm 0,02$  nos 90 min. vs.  $0,15 \pm 0,04$  no início do repouso;  $n=8$ ; SAL i.p. e  $0,16 \pm 0,04$  nos 90 min. vs.  $0,20 \pm 0,01$  no início do repouso;  $n=7$ ; *p*-CPA i.p.). Entre as duas situações experimentais foram observadas diferenças no índice de dissipação de calor do 20<sup>o</sup> ao 25<sup>o</sup> min.

#### Figura 5.1.2 (B)

Os animais pré-tratados intraperitonealmente com solução salina ou *p*-CPA não apresentaram modificações no índice de dissipação de calor ao longo do período de repouso após o tratamento central com TRP ( $0,07 \pm 0,01$  aos 90 min. vs.  $0,18 \pm 0,03$  no 0 min.;  $n=4$ ; SAL i.p. e  $0,27 \pm 0,02$  aos 90 min. vs.  $0,16 \pm 0,03$  no 0 min.;  $n=4$ ; *p*-CPA i.p.).

O índice de dissipação de calor foi mais elevado no grupo que recebeu *p*-CPA i.p. a partir do 15<sup>o</sup> min. até o final do repouso.



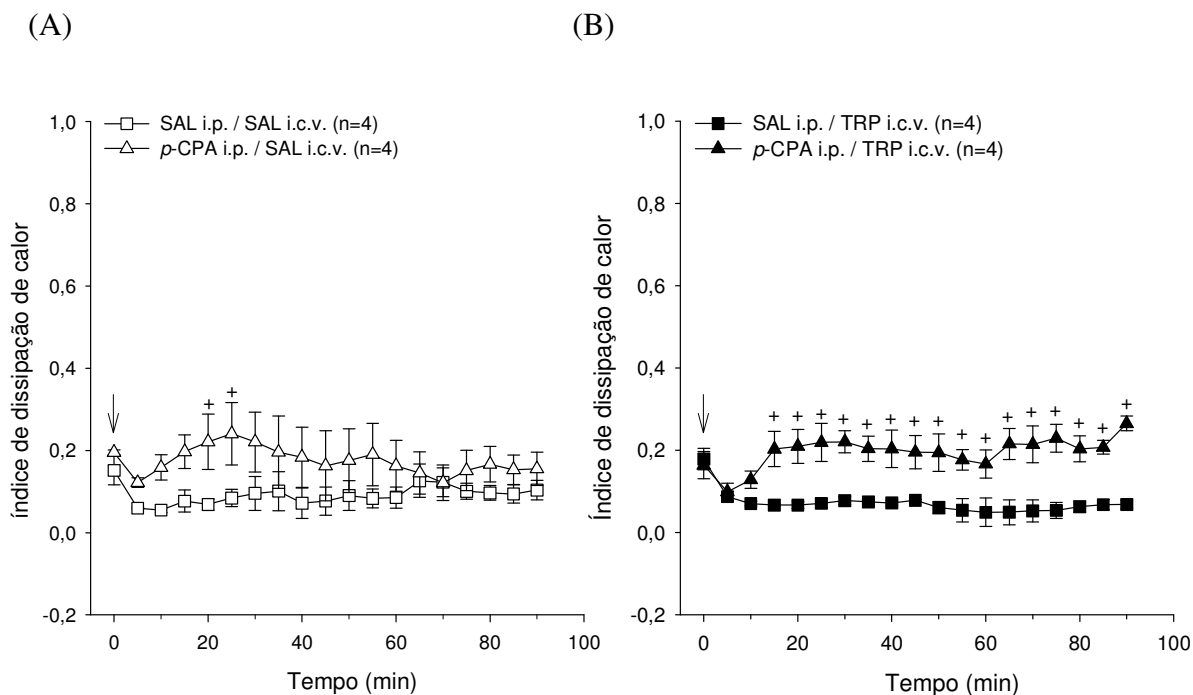


Figura 5.1.2 Efeito da injeção i.c.v. de  $2\mu\text{L}$  de  $0,15\text{ M}$  de SAL (A) ou de  $20,3\ \mu\text{M}$  TRP (B) sobre o índice de dissipação de calor de ratos não treinados durante o repouso, pré-tratados i.p. com SAL ou p-CPA. A seta ( $\downarrow$ ) indica o início do período de repouso. Os dados expressam média  $\pm$  EPM. + diferença em comparação à situação SAL i.p. ( $p \leq 0,05$ ).

## 5.2 Efeito da paraclorofenilalanina periférica (i.p.) no desempenho físico e na temperatura corporal

### 5.2.1 Tempo total de exercício até a fadiga

A figura 5.2.1 apresenta os valores médios do tempo total de exercício (TTE; min) após a injeção intracerebroventricular de 2  $\mu$ L de salina 0,15M (SAL) ou de L-triptofano 20,3 $\mu$ M (TRP) em ratos pré-tratados com injeções intraperitoneais (i.p.) de paraclorofenilalanina (*p*-CPA; 100mg/Kg/3dias) e submetidos ao exercício submáximo (18 m.min<sup>-1</sup> e 5% de inclinação; ~66%VO<sub>2max</sub>) até a fadiga.

Nos animais pré-tratados i.p. com *p*-CPA a injeção central de TRP não modificou o tempo total de corrida até a fadiga em relação ao grupo controle (78,32  $\pm$  10,89 min. TRP vs. 69,74  $\pm$  5,30 min. SAL; n=7).

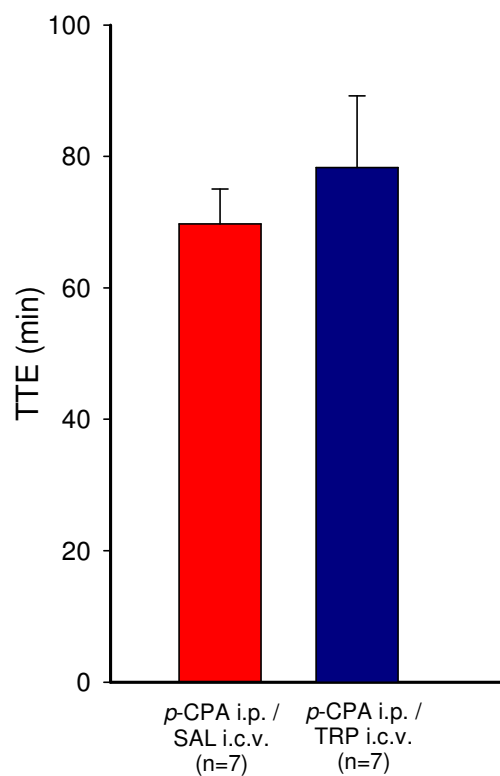


Figura 5.2.1 Efeito da injeção i.c.v. de 2 $\mu$ L de SAL 0,15 M ou de TRP 20,3  $\mu$ M no tempo total de exercício (TTE; min) de ratos não treinados pré-tratados i.p. com *p*-CPA e submetidos ao exercício submáximo até a fadiga. Os valores descritos dentro dos parênteses indicam os números de animais. Os dados expressam média  $\pm$  EPM.

## 5.2.2 Temperatura interna e a da cauda

A figura 5.2.2 apresenta os valores médios das temperaturas internas ( $^{\circ}\text{C}$ ) (no painel superior) e as das caudas ( $^{\circ}\text{C}$ ) (no painel inferior) após a injeção intracerebroventricular de  $2\ \mu\text{L}$  de salina  $0,15\ \text{M}$  (SAL) (A) ou de L-triptofano  $20,3\ \mu\text{M}$  (TRP) (B) em ratos pré-tratados com injeções intraperitoneais (i.p.) de salina (SAL;  $0,5\text{mL}/100\text{g}/3\text{dias}$ ) ou de paraclorofenilalanina (*p*-CPA;  $100\text{mg}/\text{Kg}/3\text{dias}$ ) e submetidos ao exercício submáximo até a fadiga.

Nas curvas de evolução temporal das temperaturas internas e nas das caudas, os valores representados no gráfico correspondem até o momento em que todos os animais do grupo estavam correndo e registram também, o instante da fadiga. Por sua vez, os dados das temperaturas internas e das caudas são representados a cada 2 min. da leitura.

### Figura 5.2.2 (A)

Prévia à injeção de SAL no VCD, as temperaturas internas ( $37,69 \pm 0,20^{\circ}\text{C}$  *p*-CPA i.p. vs.  $37,33 \pm 0,07^{\circ}\text{C}$  SAL i.p.) e as das caudas ( $27,51 \pm 0,17^{\circ}\text{C}$  *p*-CPA i.p. vs.  $26,69 \pm 0,27^{\circ}\text{C}$  SAL i.p.) não foram diferentes nas duas situações experimentais.

Nos ratos pré-tratados com *p*-CPA i.p. e tratados centralmente com SAL a temperatura interna não se alterou ao longo do exercício até o momento da fadiga ( $38,39 \pm 0,42^{\circ}\text{C}$  na fadiga vs.  $37,79 \pm 0,22^{\circ}\text{C}$  no início do exercício;  $n=7$ ). Contudo, a temperatura interna do grupo pré-tratado com SAL i.p. aumentou a partir do 7<sup>o</sup> min. do exercício e permaneceu elevada até o momento da fadiga ( $38,05 \pm 0,06^{\circ}\text{C}$  aos 7 min. vs.  $37,45 \pm 0,10^{\circ}\text{C}$  no início do exercício;  $n=6$ ;  $p \leq 0,05$ ). Ao longo do exercício e no momento da fadiga não foram observadas diferenças nas temperaturas internas entre as duas situações experimentais.

Os animais pré-tratados com SAL i.p. tiveram a temperatura da cauda aumentada a partir do 14<sup>o</sup> min. de exercício e esta permaneceu elevada até o momento da fadiga ( $28,98 \pm 0,73^{\circ}\text{C}$  aos 14 min. vs.  $26,24 \pm 0,26^{\circ}\text{C}$  no início do exercício;  $n=6$ ;  $p \leq 0,05$ ). No grupo que recebeu pré-tratamento com *p*-CPA i.p., esse aumento se deu a partir do 8<sup>o</sup> min. do exercício ( $29,07 \pm 0,93^{\circ}\text{C}$  aos 8 min. vs.  $26,88 \pm 0,22^{\circ}\text{C}$  no início do exercício;  $n=7$ ;  $p \leq 0,05$ ). A temperatura da cauda do grupo *p*-CPA i.p. foi maior que a do grupo SAL i.p. do 4<sup>o</sup> ao 14<sup>o</sup> min. de exercício.

No momento da fadiga não foram observadas diferenças nas temperaturas internas ( $38,39 \pm 0,42^\circ\text{C}$  *p*-CPA i.p. vs.  $38,56 \pm 0,16^\circ\text{C}$  SAL i.p.) e nas das caudas ( $30,44 \pm 0,46^\circ\text{C}$  *p*-CPA i.p. vs.  $30,43 \pm 0,46^\circ\text{C}$  SAL i.p.) entre as duas situações experimentais.

#### Figura 5.2.2 (B)

Antes da injeção central de TRP não havia diferenças nas temperaturas internas ( $37,80 \pm 0,26^\circ\text{C}$  *p*-CPA i.p. vs.  $37,35 \pm 0,16^\circ\text{C}$  SAL i.p.) e nas das caudas ( $27,29 \pm 0,15^\circ\text{C}$  *p*-CPA i.p. vs.  $26,83 \pm 0,25^\circ\text{C}$  SAL i.p.) entre as duas situações experimentais.

No grupo pré-tratado com SAL i.p. a temperatura interna elevou-se a partir do 6<sup>o</sup> min. de exercício e esta permaneceu elevada até o momento da fadiga ( $37,99 \pm 0,16^\circ\text{C}$  aos 6 min. vs.  $37,44 \pm 0,13^\circ\text{C}$  no início do exercício;  $n=7$ ;  $p \leq 0,05$ ). Nos animais que receberam pré-tratamento com *p*-CPA i.p. a temperatura interna não se alterou ao longo do exercício até o momento da fadiga ( $38,38 \pm 0,40^\circ\text{C}$  na fadiga vs.  $37,99 \pm 0,29^\circ\text{C}$  no início do exercício;  $n=7$ ). Durante o exercício não foram observadas diferenças entre os dois tratamentos.

Os ratos pré-tratados com SAL i.p. apresentaram aumento na temperatura da cauda a partir do 12<sup>o</sup> min. de exercício, permanecendo elevada até o momento da fadiga ( $29,11 \pm 1,01^\circ\text{C}$  aos 12 min. vs.  $26,54 \pm 0,26^\circ\text{C}$  no início do exercício;  $n=7$ ;  $p \leq 0,05$ ), enquanto que, nos animais pré-tratados com *p*-CPA i.p. o aumento na temperatura da cauda foi a partir 6<sup>o</sup> min. de exercício e se manteve até o momento da fadiga ( $29,72 \pm 0,28^\circ\text{C}$  aos 6 min. vs.  $26,90 \pm 0,17^\circ\text{C}$  no início do exercício;  $n=7$ ;  $p \leq 0,05$ ). As diferenças entre os tratamentos foram observadas do 6<sup>o</sup> ao 12<sup>o</sup> min. de exercício.

No momento da fadiga não foram observadas diferenças entre os grupos em relação às temperaturas internas ( $38,38 \pm 0,40^\circ\text{C}$  *p*-CPA i.p. vs.  $38,48 \pm 0,17^\circ\text{C}$  SAL i.p.) e as das caudas ( $31,35 \pm 0,41^\circ\text{C}$  *p*-CPA i.p. vs.  $30,30 \pm 0,25^\circ\text{C}$  SAL i.p.).

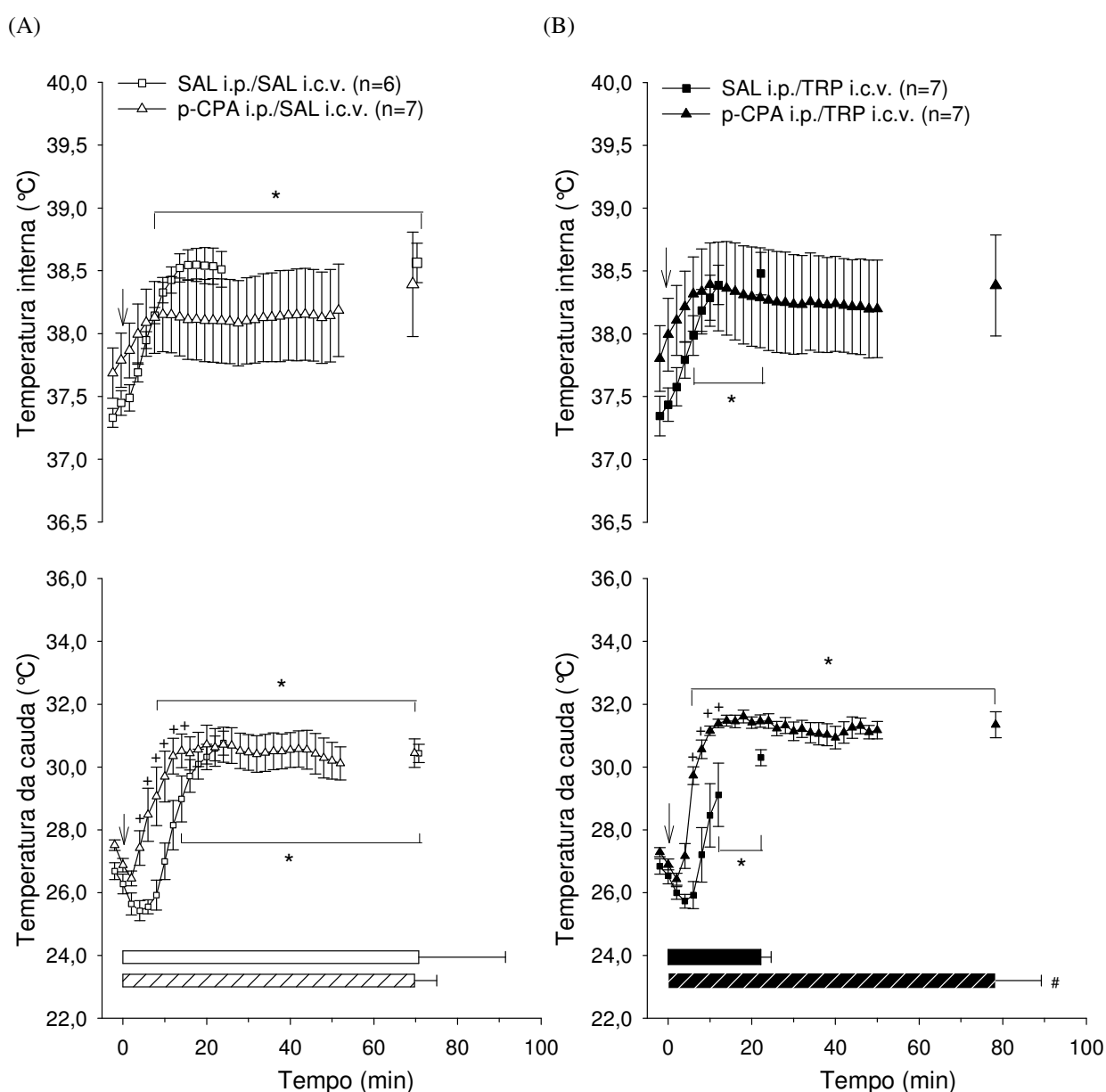


Figura 5.2.2 Efeito da injeção i.c.v. de 2µL de SAL 0,15 M (A) ou de TRP 20,3 µM (B) nas temperaturas internas (°C) (painel superior) e nas das caudas (°C) (painel inferior) de ratos não treinados pré-tratados i.p. com SAL ou *p*-CPA e submetidos ao exercício submáximo até a fadiga. A seta (↓) indica o início do exercício. A barra horizontal representa o tempo total de exercício (TTE; min): a branca (A) ou preta (B) indicam o grupo SAL i.p. e a hachurada branca (A) ou preta (B) o grupo *p*-CPA i.p. Os dados expressam média ± EPM. \* significativo em relação ao início do exercício ( $p \leq 0,05$ ); + significativo em relação ao grupo controle ( $p \leq 0,05$ ); # significativo em comparação à SAL i.p. ( $p = 0,0003$ ).

### 5.2.3 Índice de dissipação de calor

A figura 5.2.3 apresenta os valores médios do índice de dissipação de calor após a injeção intracerebroventricular de 2  $\mu$ L de salina 0,15 M (SAL) (A) ou de L-triptofano 20,3  $\mu$ M (TRP) (B) em ratos pré-tratados com injeções intraperitoneais (i.p.) de salina (SAL; 0,5mL/100g/3dias) ou de paraclorofenilalanina (*p*-CPA; 100mg/Kg/3dias) e submetidos ao exercício submáximo até a fadiga.

Nas curvas de evolução temporal do índice de dissipação de calor os valores representados no gráfico correspondem até o momento em que todos os animais do grupo estavam correndo e registram também o instante da fadiga. Por sua vez, os dados dos índices de dissipação de calor são representados a cada 2 min. da leitura.

#### Figura 5.2.3 (A)

O índice de dissipação de calor no grupo pré-tratado com SAL i.p. elevou-se a partir do 14<sup>o</sup> min. de exercício permanecendo assim até o momento da fadiga ( $0,35 \pm 0,05$  aos 14 min. vs.  $0,19 \pm 0,02$  no início do exercício;  $n=6$ ;  $p \leq 0,05$ ). A administração prévia de *p*-CPA i.p. antecipou o aumento no índice de dissipação de calor para o 6<sup>o</sup> min. de exercício, permanecendo até o momento da fadiga ( $0,29 \pm 0,05$  aos 6 min. vs.  $0,17 \pm 0,01$  no início do exercício;  $n=7$ ;  $p \leq 0,05$ ). Na curva de evolução temporal do índice de dissipação de calor foram observadas diferenças entre os tratamentos do 6<sup>o</sup> ao 12<sup>o</sup> min. de exercício.

No momento da fadiga não foram observadas diferenças no índice de dissipação de calor entre os grupos ( $0,43 \pm 0,04$  *p*-CPA i.p. vs.  $0,44 \pm 0,02$  SAL i.p.).

#### Figura 5.2.3 (B)

O índice de dissipação de calor no grupo pré-tratado com SAL i.p. foi diferente do basal a partir do 12<sup>o</sup> min. de exercício permanecendo até a fadiga ( $0,35 \pm 0,07$  aos 12 min. vs.  $0,20 \pm 0,02$  no início do exercício;  $n=7$ ;  $p \leq 0,05$ ). Entretanto, no grupo pré-tratado com *p*-CPA i.p., esse índice aumentou a partir do 6<sup>o</sup> min. do exercício e permaneceu elevado até o momento da fadiga ( $0,37 \pm 0,03$  aos 6 min. vs.  $0,18 \pm 0,01$  no início do exercício;  $n=7$ ;  $p \leq 0,05$ ).

No índice de dissipação de calor foram observadas diferenças do 6<sup>o</sup> ao 12<sup>o</sup> min. de exercício entre os grupos.

No momento da fadiga não foram observadas diferenças no índice de dissipação de calor entre os grupos ( $0,48 \pm 0,02$  *p*-CPA i.p. vs.  $0,43 \pm 0,02$  SAL i.p.).

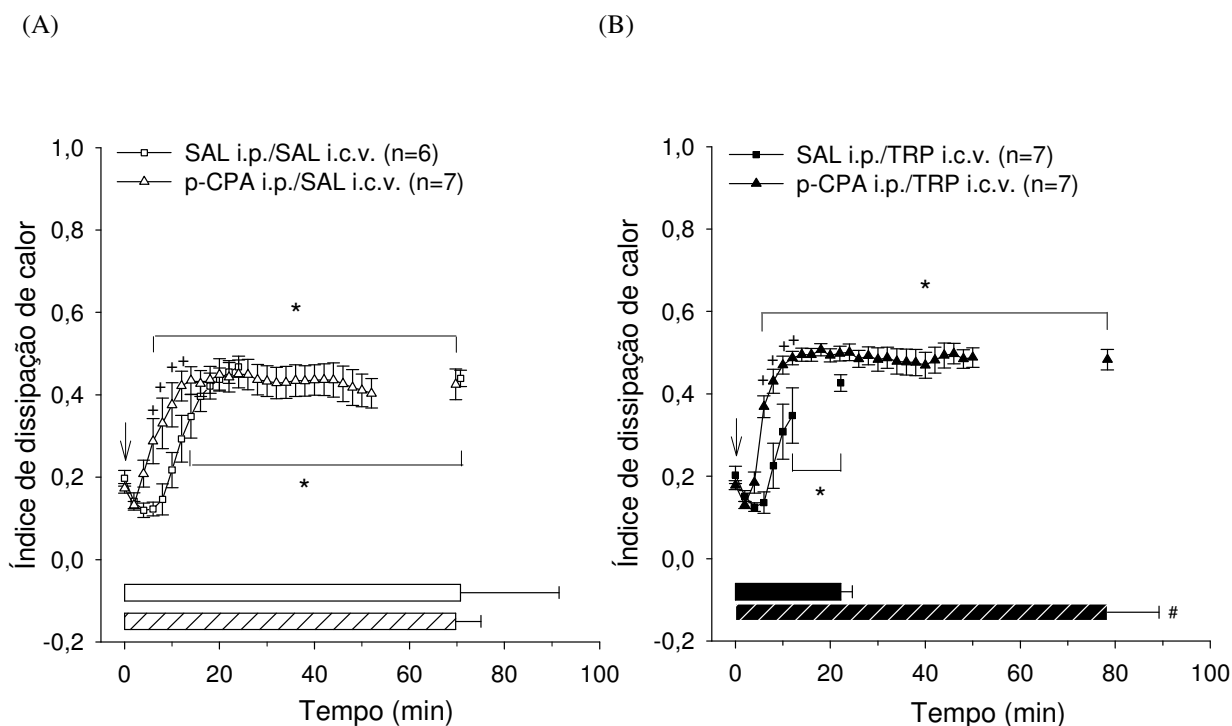


Figura 5.2.3 Efeito da injeção i.c.v. de 2 $\mu$ L de SAL 0,15 M (A) ou de TRP 20,3  $\mu$ M (B) no índice de dissipação de calor de ratos não treinados pré-tratados i.p. com SAL ou *p*-CPA e submetidos ao exercício submáximo até a fadiga. A seta ( $\downarrow$ ) indica o início do exercício (momento zero). A barra horizontal representa o tempo total de exercício (TTE; min): a branca (A) ou preta (B) indicam o grupo SAL i.p. e a hachurada branca (A) ou preta (B) o grupo *p*-CPA i.p. Os dados expressam média  $\pm$  EPM. \*significante em relação ao início do exercício ( $p \leq 0,05$ ); + significante em relação ao grupo controle ( $p \leq 0,05$ ); # significante em comparação à SAL i.p. ( $p = 0,003$ ).



### **5.3 Efeito central (i.c.v.) de TRP com ou sem injeção periférica (i.p.) de *p*-CPA sobre a temperatura corporal e o metabolismo durante o repouso.**

#### **5.3.1 Temperatura interna e a da cauda**

A figura 5.3.1 apresenta os valores médios da temperatura interna (°C) (painel superior) e da temperatura da cauda (°C) (painel inferior) após a injeção intracerebroventricular de 2 µL de 0,15 M de salina (SAL) ou de 20,3 µM de triptofano (TRP) em ratos pré-tratados com injeções intraperitoneais de solução salina (A) (SAL; 0,5mL/100g/3dias) ou de paraclorofenilalanina (B) (*p*-CPA; 100mg/Kg/3dias) durante o repouso.

Nas curvas de evolução temporal das temperaturas internas e nas das caudas, os valores representados no gráfico correspondem ao período de repouso na esteira rolante. Por sua vez, os dados das temperaturas internas e das caudas são representados a cada 5 min. da leitura.

##### Figura 5.3.1 (A)

Imediatamente antes da injeção central a temperatura interna ( $37,83 \pm 0,19^\circ\text{C}$  TRP vs.  $37,72 \pm 0,11^\circ\text{C}$  SAL;  $n=4$ ) e a temperatura da cauda ( $26,47 \pm 0,79^\circ\text{C}$  SAL vs.  $26,78 \pm 0,40^\circ\text{C}$  TRP;  $n=4$ ) não foram diferentes entre as duas situações experimentais.

A partir do 10<sup>o</sup> min. de repouso a temperatura interna elevou-se no grupo controle em relação ao minuto zero ( $38,53 \pm 0,27^\circ\text{C}$  SAL aos 10 min. vs.  $37,93 \pm 0,15^\circ\text{C}$  no 0 min.;  $n=4$ ;  $p \leq 0,05$ ). Entretanto, no grupo tratado centralmente com TRP nenhuma modificação na temperatura interna foi observada ao longo do tempo de repouso ( $38,56 \pm 0,10^\circ\text{C}$  aos 90 min. vs.  $37,89 \pm 0,17^\circ\text{C}$  no 0 min.;  $n=4$ ). Diferenças na temperatura interna entre as duas situações experimentais foram identificadas do 20<sup>o</sup> ao 35<sup>o</sup> min., do 55<sup>o</sup> ao 60<sup>o</sup> min e no 75<sup>o</sup> min.

A temperatura da cauda não foi modificada ao longo do período de repouso no grupo controle ( $25,44 \pm 0,47^\circ\text{C}$  aos 90 min. vs.  $25,92 \pm 0,59^\circ\text{C}$  no 0 min.;  $n=4$ ) e no grupo tratado centralmente com TRP ( $25,16 \pm 0,21^\circ\text{C}$  aos 90 min. vs.  $26,67 \pm$

0,24°C no 0 min.; n=4). Além disso, também não foram observadas diferenças na temperatura da cauda durante o repouso entre as duas situações experimentais.

#### Figura 5.3.1 (B)

Imediatamente antes da injeção central, a temperatura interna ( $37,67 \pm 0,31$  °C TRP vs.  $38,05 \pm 0,08$  °C SAL; n=4) e a temperatura da cauda ( $25,86 \pm 0,48$  °C TRP vs.  $26,41 \pm 0,20$  °C SAL; n=4) não foram diferentes entre as duas situações experimentais.

Durante o repouso a temperatura interna não foi modificada no grupo controle ( $38,57 \pm 0,13$  °C aos 90 min. vs.  $38,10 \pm 0,13$  °C no 0 min.; n=4) e no grupo tratado centralmente com TRP ( $38,15 \pm 0,49$  °C aos 90 min. vs.  $37,73 \pm 0,25$  °C no 0 min.; n=4). Além disso, nenhuma diferença foi observada ao longo do período do repouso entre as duas situações experimentais.

A temperatura da cauda durante o repouso, no grupo controle não foi diferente em nenhum momento após a injeção central ( $25,95 \pm 0,64$  °C aos 90 min. vs.  $26,39 \pm 0,13$  °C no 0 min.; n=4), sendo a mesma resposta observada no grupo tratado com TRP i.c.v. ( $27,65 \pm 0,28$  °C aos 90 min. vs.  $25,97 \pm 0,26$  °C no 0 min.; n=4). Não houve diferenças na temperatura da cauda durante o repouso entre as duas situações experimentais.

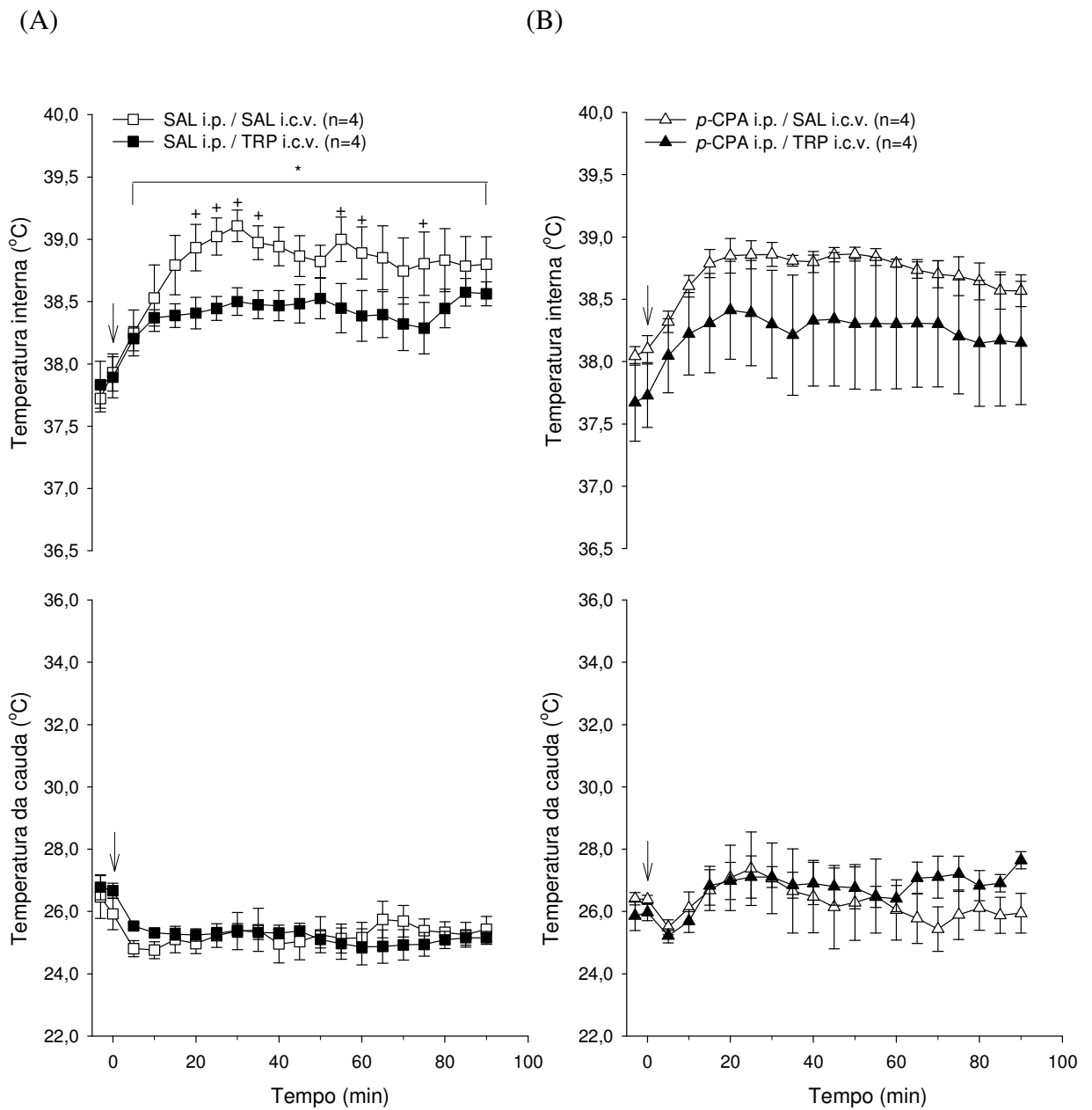


Figura 5.3.1 Efeito da injeção i.c.v. de 2 $\mu$ L de 0,15 M de SAL ou 20,3  $\mu$ M TRP sobre a temperatura interna (°C) (painel superior) e a temperatura da cauda (°C) (painel inferior) de ratos não treinados durante o repouso, pré-tratados i.p. com SAL (A) ou *p*-CPA (B). A seta ( $\downarrow$ ) indica o início do período de repouso. Os dados expressam média  $\pm$  EPM. \* diferença em relação ao início do repouso ( $p \leq 0,05$ ); + diferença em relação à situação SAL i.c.v. ( $p \leq 0,05$ ).

### 5.3.2. Índice de dissipação de calor

A figura 5.3.2 apresenta os valores médios do índice de dissipação de calor após a injeção intracerebroventricular de 2  $\mu$ L de 0,15 M de salina (SAL) ou de 20,3  $\mu$ M de L-triptofano (TRP) em ratos pré-tratados com injeções intraperitoneais de solução salina (SAL; 0,5mL/100g/3dias) (A) ou paraclorofenilalanina (*p*-CPA; 100mg/Kg/3dias) (B) durante o repouso.

Nas curvas de evolução temporal do índice de dissipação de calor os valores representados no gráfico correspondem ao período de repouso na esteira rolante. Por sua vez, os dados do índice de dissipação de calor são representados a cada 5 min. da leitura.

#### Figura 5.3.2 (A)

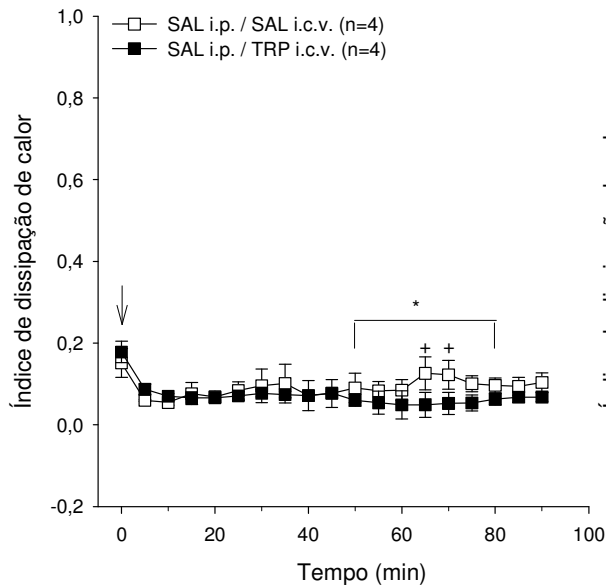
Durante o repouso o índice de dissipação de calor não foi modificado no grupo controle ( $0,10 \pm 0,02$  aos 90 min. vs.  $0,15 \pm 0,04$  no início do exercício;  $n=4$ ). Enquanto, no grupo tratado com TRP o índice de dissipação foi menor dos 50 aos 80 min. em relação ao início do período de repouso ( $0,06 \pm 0,01$  aos 50 min. vs.  $0,18 \pm 0,03$  no 0 min.;  $n=4$ ;  $p \leq 0,05$ ).

Diferenças no índice de dissipação de calor entre as duas situações experimentais foram observadas entre 65 e 70 min.

#### Figura 5.3.2 (B)

Durante o repouso o índice de dissipação de calor não foi modificado no grupo controle ( $0,16 \pm 0,04$  aos 90 min. vs.  $0,20 \pm 0,01$  no 0 min.;  $n=4$ ) e no grupo tratado com injeção central de TRP ( $0,27 \pm 0,02$  aos 90 min. vs.  $0,16 \pm 0,03$  no 0 min.;  $n=4$ ). Além disso, nenhuma diferença no índice de dissipação de calor foi observada entre as duas situações experimentais.

(A)



(B)

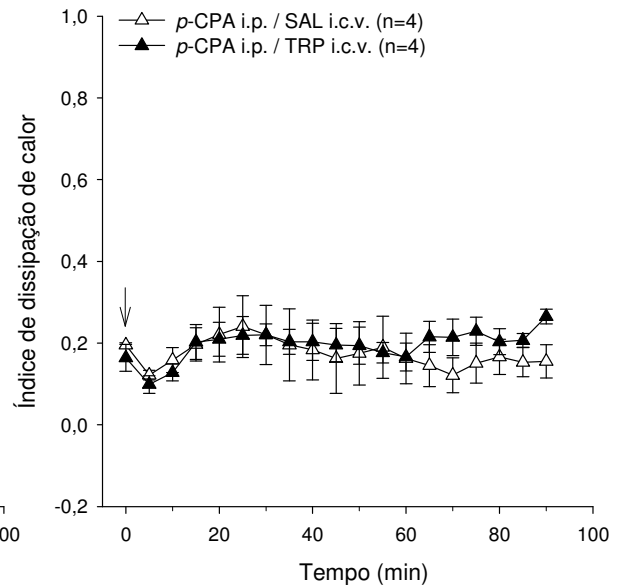


Figura 5.3.2 Efeito da injeção i.c.v. de 2 $\mu$ L de 0,15 M de SAL ou de 20,3  $\mu$ M TRP sobre o índice de dissipação de calor de ratos não treinados durante o repouso, pré-tratados i.p. com SAL (A) ou p-CPA (B). A seta ( $\downarrow$ ) indica o início do período de repouso. Os dados expressam média  $\pm$  EPM. \* diferença em comparação ao início do repouso (p<0,05); + diferença em comparação à situação SAL i.c.v. (p<0,05).

### 5.3.3 Concentração plasmática de glicose e lactato no final do período de repouso

A figura 5.3.3 apresenta os valores médios das concentrações plasmáticas de glicose (mmol/L) e de lactato (mmol/L) após as injeções intracerebroventricular de 2  $\mu$ L de 0,15 M de salina (SAL) ou de 20,3  $\mu$ M de L-triptofano (TRP) em ratos pré-tratados com injeções intraperitoneais de salina (SAL; 0,5mL/100g/3dias) ou de paraclorofenilalanina (*p*-CPA; 100mg/Kg/3dias) no momento final do período de repouso.

Os animais que receberam injeção central de TRP, quando receberam injeção intraperitoneal de SAL, não apresentaram variação em relação à resposta da concentração plasmática de glicose e de lactato, quando comparado com o grupo controle (8,69  $\pm$  0,17 mmol/L TRP i.c.v./SAL i.p. vs. 8,54  $\pm$  0,40 mmol/L SAL i.c.v./SAL i.p.; n=4 - Concentração de glicose e 3,44  $\pm$  0,75 mmol/L TRP i.c.v./SAL i.p. vs. 3,23  $\pm$  0,22 mmol/L SAL i.c.v./SAL i.p.; n=4 – Concentração de lactato).

O pré-tratamento intraperitoneal com *p*-CPA não modificou a concentração plasmática de glicose e de lactato dos animais que receberam injeção central de TRP em relação ao grupo controle (8,98  $\pm$  0,43 mmol/L TRP i.c.v./*p*-CPA i.p. vs. 8,75  $\pm$  0,30 mmol/L SAL i.c.v./*p*-CPA i.p.; n=4 – Concentração de glicose e 3,14  $\pm$  0,31 mmol/L TRP i.c.v./*p*-CPA i.p. vs. 2,92  $\pm$  0,29 mmol/L SAL i.c.v./*p*-CPA i.p.; n=4 – Concentração de lactato).

Comparando os pré-tratamentos intraperitoneais, o *p*-CPA não modificou as concentrações plasmáticas de glicose e de lactato nos ratos que receberam tratamento central de TRP, quando comparados com os animais que receberam pré-tratamento intraperitoneal de SAL (8,98  $\pm$  0,43 mmol/L TRP i.c.v./*p*-CPA i.p. vs. 8,69  $\pm$  0,17 mmol/L TRP i.c.v./ SAL i.p. – Concentração de glicose e 3,14  $\pm$  0,31 mmol/L TRP i.c.v./*p*-CPA i.p. vs. 3,44  $\pm$  0,75 mmol/L TRP i.c.v./ SAL i.p. – Concentração de lactato).

Em relação aos animais que receberam tratamento central de SAL e que receberam injeções intraperitoneais de *p*-CPA ou de SAL também não foram observadas diferenças nas concentrações plasmáticas de glicose e de lactato (8,75  $\pm$  0,30 mmol/L SAL i.c.v./ *p*-CPA i.p. vs. 8,54  $\pm$  0,40 mmol/L SAL i.c.v./ SAL i.p. –

Concentração de glicose e  $2,92 \pm 0,29$  mmol/L SAL i.c.v./*p*-CPA i.p vs.  $3,23 \pm 0,22$  mmol/L SAL i.c.v./ SAL i.p. – Concentração de lactato).

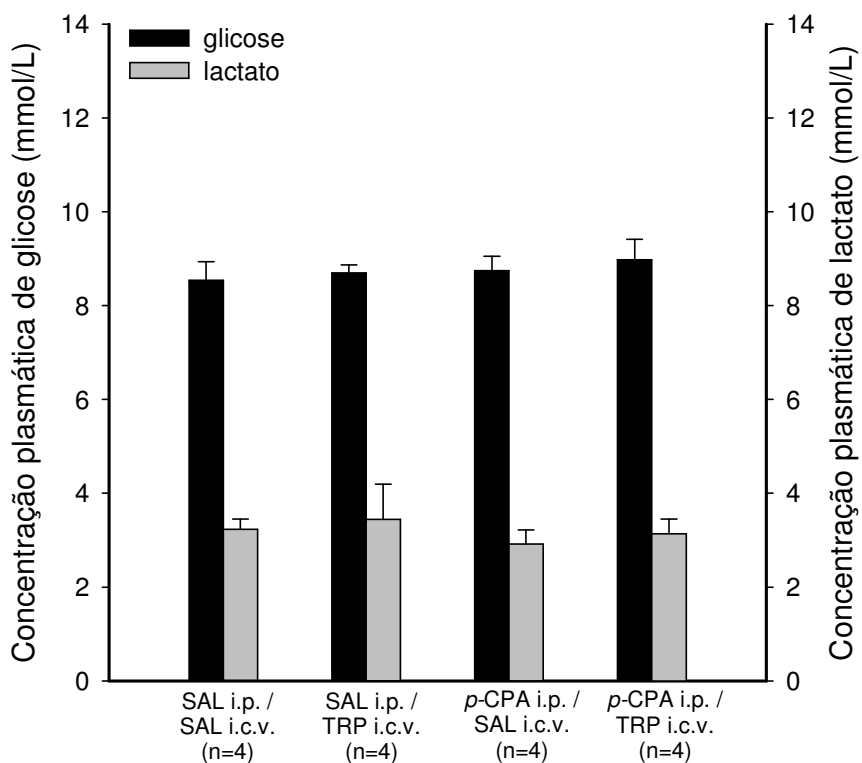


Figura 5.3.3 Efeito da injeção i.c.v. de 2 $\mu$ L de 0,15 M de SAL ou de 20,3  $\mu$ M TRP sobre as concentrações plasmáticas de glicose (mmol/L) e lactato (mmol/L) de ratos não treinados no término do período de repouso, pré-tratados i.p. com SAL ou *p*-CPA. Os valores entre parênteses indicam o número de animais. Os dados expressam média  $\pm$  EPM.

## 5.4. Efeito central (i.c.v.) de TRP com ou sem injeção periférica (i.p.) de *p*-CPA no desempenho físico, na temperatura corporal e no metabolismo.

### 5.4.1 Tempo total de exercício até a fadiga

A figura 5.4.1 apresenta os valores médios do tempo total de exercício (TTE; min) após a injeção intracerebroventricular de 2  $\mu$ L de salina 0,15 M (SAL) ou de L-triptofano 20,3  $\mu$ M (TRP) em ratos pré-tratados com injeções intraperitoneais (i.p.) de salina (SAL; 0,5mL/100g/3dias) ou de paraclorofenilalanina (*p*-CPA; 100mg/Kg/3dias) e submetidos ao exercício submáximo (18 m.min<sup>-1</sup> e 5% de inclinação; ~66%VO<sub>2max</sub>) até a fadiga.

A injeção central de TRP nos animais pré-tratados com solução SAL i.p. antecipou o momento da fadiga em 69% em relação ao grupo controle. Os ratos controle (SAL) correram 70,74  $\pm$  20,76 min., enquanto que os injetados com TRP i.c.v. correram 22,17  $\pm$  2,45 min. (n=7; p=0,028).

Nos animais pré-tratados com solução *p*-CPA i.p. a injeção central de TRP não modificou o TTE em relação ao grupo SAL (69,74  $\pm$  5,30 min. SAL vs. 78,32  $\pm$  10,89 min. TRP; n=7).

O pré-tratamento com *p*-CPA i.p. bloqueou o efeito da injeção central de TRP sobre o TTE, retardando o início da fadiga, quando comparado com os ratos pré-tratados com SAL i.p. (78,32  $\pm$  10,89 min. *p*-CPA i.p./TRP i.c.v. vs. 22,17  $\pm$  2,45 min. SAL i.p./TRP i.c.v.; p= 0,0003). Enquanto isso, nos ratos que receberam injeção central de SAL e pré-tratamento com *p*-CPA i.p., não foram observadas modificações no TTE, em relação aos animais SAL i.p. (69,74  $\pm$  5,30 min. *p*-CPA i.p./SAL i.c.v. vs. 70,74  $\pm$  20,76 min. SAL i.p./SAL i.c.v.).



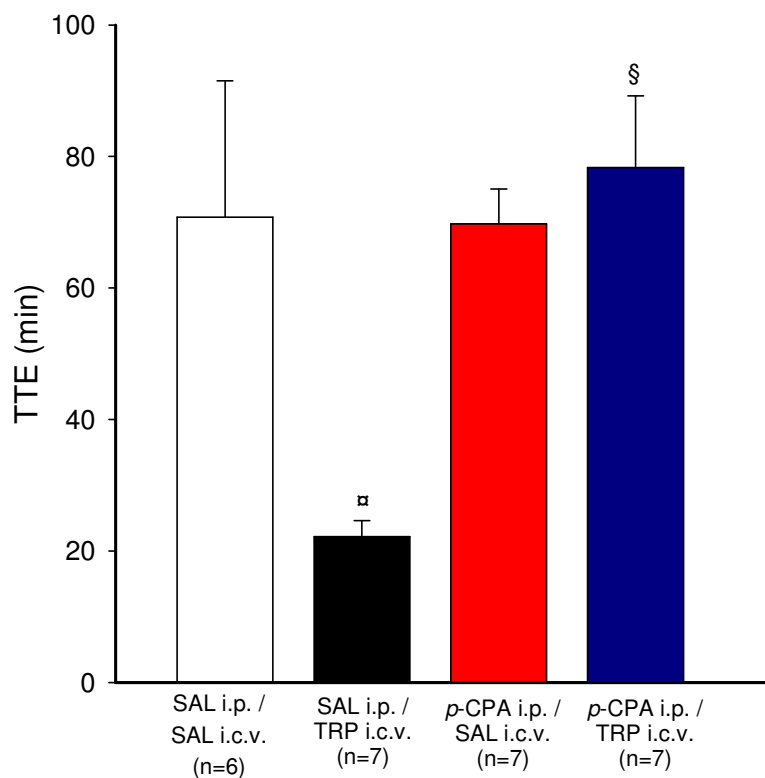


Figura 5.4.1 Efeito da injeção i.c.v. de 2µL de SAL 0,15 M ou de TRP 20,3 µM no tempo total de exercício (TTE; min) de ratos não treinados pré-tratados i.p. com SAL ou *p*-CPA e submetidos ao exercício submáximo até a fadiga. Entre os parênteses estão indicados os números de animais. Os dados expressam média ± EPM. <sup>α</sup> significativa em relação à SAL i.p./SAL i.c.v. (p=0,028); <sup>§</sup> significativa em relação à SAL i.p./TRP i.c.v. (p=0,0003).

## 5.4.2 Temperatura interna e a da cauda

A figura 5.4.2 apresenta os valores médios das temperaturas internas (°C) (no painel superior) e as das caudas (°C) (no painel inferior) após a injeção intracerebroventricular de 2 µL de salina 0,15 M (SAL) ou de L-triptofano 20,3 µM (TRP) em ratos pré-tratados com injeções intraperitoneais (i.p.) de salina (A) (SAL; 0,5mL/100g/3dias) ou de paraclorofenilalanina (B) (p-CPA; 100mg/Kg/3dias) e submetidos ao exercício submáximo até a fadiga.

Nas curvas de evolução temporal das temperaturas internas e nas das caudas, os valores representados no gráfico correspondem até o momento em que todos os animais do grupo estavam correndo e registram também o instante da fadiga. Por sua vez, os dados das temperaturas internas e as das caudas são representados a cada 2 min. da leitura.

### Figura 5.4.2 (A)

Antes da injeção no VCD, as temperaturas internas ( $37,33 \pm 0,07^{\circ}\text{C}$  SAL vs.  $37,35 \pm 0,16^{\circ}\text{C}$  TRP) e as das caudas ( $26,69 \pm 0,27^{\circ}\text{C}$  SAL vs.  $26,83 \pm 0,25^{\circ}\text{C}$  TRP) não foram diferentes entre as duas situações.

O exercício físico aumentou a temperatura interna em ambos os grupos e essa permaneceu elevada até o momento da fadiga. Nos ratos controles (SAL) este aumento se deu a partir do 7<sup>o</sup> min. ( $38,05 \pm 0,06^{\circ}\text{C}$  aos 7 min. vs.  $37,45 \pm 0,10^{\circ}\text{C}$  no início do exercício; SAL; n=6;  $p \leq 0,05$ ), enquanto que nos ratos tratados com TRP, a temperatura interna aumentou a partir do 6<sup>o</sup> min. de exercício ( $37,99 \pm 0,16^{\circ}\text{C}$  aos 6 min. vs.  $37,44 \pm 0,13^{\circ}\text{C}$  no início do exercício; TRP; n=7;  $p \leq 0,05$ ).

A temperatura da cauda no grupo controle (SAL) aumentou a partir do 14<sup>o</sup> min. e permaneceu elevada até o momento da fadiga ( $28,98 \pm 0,73^{\circ}\text{C}$  aos 14 min. vs.  $26,28 \pm 0,31^{\circ}\text{C}$  no início do exercício; n=6;  $p \leq 0,05$ ). Entretanto nos animais que receberam injeção de TRP esta foi maior que a do início do exercício a partir do 12<sup>o</sup> min. permanecendo elevada até o momento da fadiga ( $29,11 \pm 1,01^{\circ}\text{C}$  aos 12 min. vs.  $26,54 \pm 0,26^{\circ}\text{C}$  no início do exercício; n=7;  $p \leq 0,05$ ). Apesar de o gráfico mostrar no início do exercício, em ambos os grupos, uma diminuição da temperatura da cauda decorrente de vasoconstrição, essa redução não é significativa estatisticamente em relação ao valor basal.

Ao longo do exercício até a fadiga não foi observada nenhuma diferença nas temperaturas internas e nas das caudas entre os grupos experimentais. No momento da fadiga não foi observada nenhuma diferença entre os grupos nas temperaturas internas ( $38,56 \pm 0,16^\circ\text{C}$  SAL vs.  $38,48 \pm 0,17^\circ\text{C}$  TRP) e nas das caudas ( $30,43 \pm 0,29^\circ\text{C}$  SAL vs.  $30,30 \pm 0,25^\circ\text{C}$  TRP).

#### Figura 5.4.2 (B)

Imediatamente antes da injeção no VCD, as temperaturas internas ( $37,69 \pm 0,20^\circ\text{C}$  SAL vs.  $37,80 \pm 0,26^\circ\text{C}$  TRP;  $n=7$ ) e as das caudas ( $27,51 \pm 0,17^\circ\text{C}$  SAL vs.  $27,29 \pm 0,15^\circ\text{C}$  TRP;  $n=7$ ) não foram diferentes entre as duas situações experimentais.

A temperatura interna não se modificou ao longo do exercício até o momento da fadiga em relação ao início do mesmo, tanto no grupo controle (SAL) ( $38,39 \pm 0,42^\circ\text{C}$  na fadiga vs.  $37,79 \pm 0,22^\circ\text{C}$  no início do exercício;  $n=7$ ), quanto no tratado com TRP ( $38,38 \pm 0,40^\circ\text{C}$  na fadiga vs.  $37,99 \pm 0,29^\circ\text{C}$  no início do exercício;  $n=7$ ). Ao longo do exercício até a fadiga, não foram evidenciadas diferenças entre os tratamentos.

O exercício físico aumentou a temperatura da cauda nos ratos controle a partir do 8<sup>o</sup> min. e esta permaneceu elevada até o momento da fadiga ( $29,07 \pm 0,93^\circ\text{C}$  aos 8 min. vs.  $26,88 \pm 0,22^\circ\text{C}$  no início do exercício;  $n=7$ ;  $p \leq 0,05$ ). No grupo tratado com TRP a temperatura da cauda aumentou a partir do 6<sup>o</sup> min. do exercício e permaneceu elevada até o momento da fadiga ( $29,72 \pm 0,28^\circ\text{C}$  aos 6 min. vs.  $26,90 \pm 0,17^\circ\text{C}$  no início do exercício;  $n=7$ ;  $p \leq 0,05$ ). No início do exercício nota-se, em ambos os grupos, uma redução na temperatura da cauda devido à vasoconstrição; entretanto, esta não é estatisticamente diferente do minuto zero. Na temperatura da cauda foram identificadas diferenças entre os tratamentos no 8<sup>o</sup> e 10<sup>o</sup> minuto de exercício.

No momento da fadiga não foram observadas diferenças nas temperaturas internas ( $38,39 \pm 0,42^\circ\text{C}$  SAL vs.  $38,38 \pm 0,40^\circ\text{C}$  TRP) e nas das caudas ( $30,44 \pm 0,46^\circ\text{C}$  SAL vs.  $31,35 \pm 0,41^\circ\text{C}$  TRP) entre os grupos experimentais.

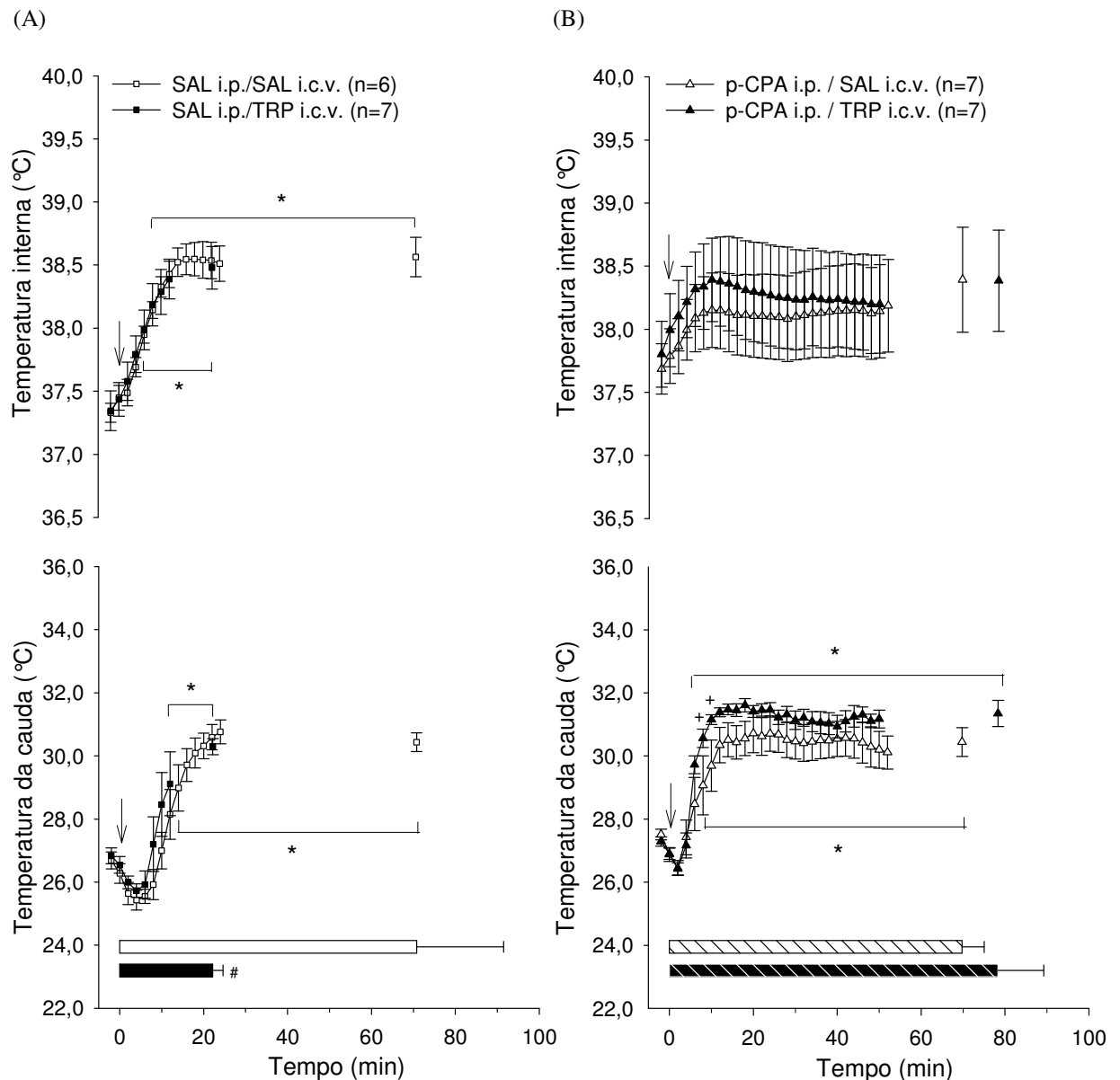


Figura 5.4.2 Efeito da injeção i.c.v. de 2 $\mu$ L de SAL 0,15 M ou de TRP 20,3  $\mu$ M nas temperaturas internas ( $^{\circ}$ C) (painel superior) e nas das caudas ( $^{\circ}$ C) (painel inferior) de ratos não treinados pré-tratados i.p. com SAL (A) ou *p*-CPA (B) e submetidos ao exercício submáximo até a fadiga. A seta ( $\downarrow$ ) indica o início do exercício (momento zero). A barra horizontal representa o tempo total de exercício (TTE; min): a branca e a hachurada branca indicam o grupo SAL i.c.v. e a preenchida e a hachurada preta, o grupo TRP i.c.v. Os dados expressam média  $\pm$  EPM. \* significativo em relação ao início do exercício ( $p \leq 0,05$ ); + significativo em relação ao grupo controle ( $p \leq 0,05$ ); # significativo em comparação à SAL i.c.v. ( $p = 0,028$ ).

### 5.4.3 Índice de dissipação de calor

A figura 5.4.3 apresenta os valores médios do índice de dissipação de calor após a injeção intracerebroventricular de 2  $\mu$ L de salina 0,15 M (SAL) ou de L-triptofano 20,3  $\mu$ M (TRP) em ratos pré-tratados com injeções intraperitoneais (i.p.) de salina (A) (SAL; 0,5mL/100g/3dias) ou de paraclorofenilalanina (B) (*p*-CPA; 100mg/kg/3dias) e submetidos ao exercício submáximo até a fadiga.

Na curva de evolução temporal do índice de dissipação de calor os valores representados no gráfico correspondem até o momento em que todos os animais do grupo estavam correndo e registram também, o instante da fadiga. Por sua vez os dados dos índices de dissipação de calor são representados a cada 2 min. da leitura.

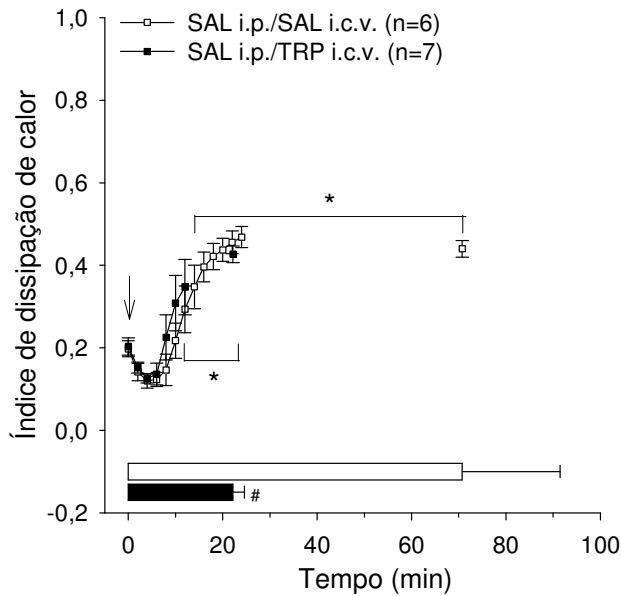
#### Figura 5.4.3 (A)

O índice de dissipação de calor no grupo controle (SAL) elevou-se a partir do 14<sup>ª</sup> min. de exercício permanecendo elevado até o momento da fadiga ( $0,35 \pm 0,05$  aos 14 min. vs.  $0,20 \pm 0,02$  no início do exercício;  $n=6$ ;  $p \leq 0,05$ ). No grupo tratado com TRP o índice de dissipação de calor aumentou a partir do 12<sup>ª</sup> min. de exercício e permaneceu elevado até o momento da fadiga ( $0,43 \pm 0,02$  aos 12 min. vs.  $0,20 \pm 0,02$  no início do exercício;  $n=7$ ;  $p \leq 0,05$ ). Ao longo do exercício até o momento da fadiga não foram observadas diferenças entre os tratamentos.

#### Figura 5.4.3 (B)

O índice de dissipação de calor nos dois grupos (SAL e TRP) aumentou a partir do 6<sup>ª</sup> min. do exercício e permaneceu elevado e constante até o momento da fadiga ( $0,29 \pm 0,05$  aos 6 min. vs.  $0,17 \pm 0,01$  no início do exercício; SAL;  $n=7$ ;  $p \leq 0,05$  e  $0,37 \pm 0,03$  aos 6 min. vs.  $0,18 \pm 0,01$  no início do exercício; TRP;  $n=7$ ;  $p \leq 0,05$ ). Nos índices de dissipação de calor foram observadas diferenças entre os tratamentos no 8<sup>ª</sup> e 10<sup>ª</sup> min. de exercício.

(A)



(B)

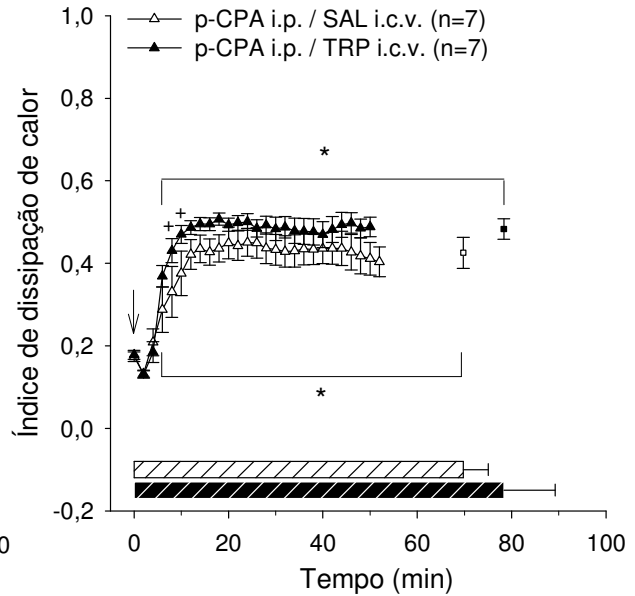


Figura 5.4.3 Efeito da injeção i.c.v. de 2 $\mu$ L de SAL 0,15 M ou de TRP 20,3  $\mu$ M no índice de dissipação de calor de ratos não treinados pré-tratados i.p. com SAL (A) ou *p*-CPA (B) e submetidos ao exercício submáximo até a fadiga. A seta ( $\downarrow$ ) indica o início do exercício (momento zero). A barra horizontal representa o tempo total de exercício (TTE; min): a branca e a hachurada branca indicam o grupo SAL i.c.v. e a preenchida e a hachurada preta, o grupo TRP i.c.v. Os dados expressam média  $\pm$  EPM. \* significativo em comparação ao início do exercício ( $p \leq 0,05$ ); + significativo em relação ao grupo controle ( $p \leq 0,05$ ); # significativo em comparação à SAL i.c.v. ( $p = 0,028$ ).

#### 5.4.4 Taxa de acúmulo de calor

A figura 5.4.4 apresenta os valores médios da taxa de acúmulo de calor (TAC;  $\text{cal}\cdot\text{min}^{-1}$ ) após a injeção intracerebroventricular de 2  $\mu\text{L}$  de salina 0,15 M (SAL) ou de L-triptofano 20,3  $\mu\text{M}$  (TRP) em ratos pré-tratados com injeções intraperitoneais (i.p.) de salina (SAL; 0,5mL/100g/3dias) ou de paraclorofenilalanina (*p*-CPA; 100mg/Kg/3dias) e submetidos ao exercício submáximo até a fadiga.

No momento da fadiga, os animais pré-tratados com SAL i.p. e que receberam TRP i.c.v. mostraram um aumento na taxa de acúmulo de calor em relação ao grupo controle ( $12,60 \pm 2,27 \text{ cal}\cdot\text{min}^{-1}$  TRP vs.  $4,80 \pm 0,94 \text{ cal}\cdot\text{min}^{-1}$  SAL;  $p=0,01$ ).

Nos animais tratados com injeção central de SAL não houve diferenças na taxa de acúmulo de calor entre os ratos pré-tratados com *p*-CPA i.p. ou SAL i.p. ( $2,14 \pm 1,10 \text{ cal}\cdot\text{min}^{-1}$  *p*-CPA i.p./SAL i.c.v. vs.  $4,80 \pm 0,94 \text{ cal}\cdot\text{min}^{-1}$  SAL i.p./SAL i.c.v.). O grupo que recebeu injeção central de TRP, quando pré-tratado com *p*-CPA i.p., apresentou uma redução de 90% na taxa de acúmulo de calor em relação ao grupo pré-tratado com SAL i.p. ( $1,33 \pm 0,57 \text{ cal}\cdot\text{min}^{-1}$  *p*-CPA i.p./TRP i.c.v. vs.  $12,60 \pm 2,27 \text{ cal}\cdot\text{min}^{-1}$  SAL i.p./TRP i.c.v.;  $p=0,0004$ ).

Os animais pré-tratados com *p*-CPA i.p. e que receberam centralmente SAL ou TRP não apresentaram, no momento da fadiga, alterações na taxa de acúmulo de calor ( $2,14 \pm 1,10 \text{ cal}\cdot\text{min}^{-1}$  SAL i.c.v. vs.  $1,33 \pm 0,57 \text{ cal}\cdot\text{min}^{-1}$  TRP i.c.v.;  $n=7$ ).

Contudo, comparando-se o efeito do pré-tratamento com *p*-CPA i.p. em relação ao SAL i.p., observamos uma redução na taxa de acúmulo de calor apenas no grupo tratado centralmente com TRP.

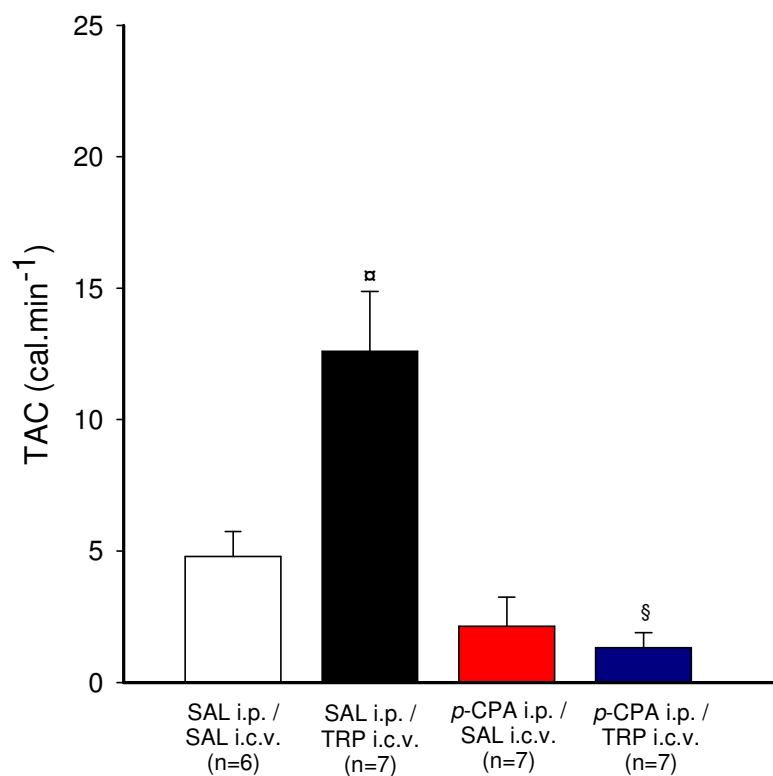


Figura 5.4.4 Efeito da injeção i.c.v. de 2µL de SAL 0,15 M ou de TRP 20,3 µM na taxa de acúmulo de calor (TAC; cal.min<sup>-1</sup>) de ratos não treinados pré-tratados i.p. com SAL ou p-CPA e submetidos ao exercício submáximo até a fadiga. Entre os parênteses estão indicados os números de animais. Os dados expressam média ± EPM. <sup>α</sup> significativa em relação à SAL i.p./SAL i.c.v. (p=0,01); <sup>§</sup> significativa em relação à SAL i.p./TRP i.c.v. (p=0,0004).



### **5.4.5 Correlação entre taxa de acúmulo de calor e tempo total de exercício**

A figura 5.4.5 apresenta a correlação entre a taxa de acúmulo de calor (TAC; cal.min<sup>-1</sup>) e o tempo total de exercício até a fadiga (TTE; min.) após a injeção intracerebroventricular de 2 µL de salina 0,15 M (SAL) ou de L-triptofano 20,3 µM (TRP) em ratos pré-tratados com injeções intraperitoneais (i.p.) de salina (SAL; 0,5mL/100g/3dias) ou de paraclorofenilalanina (*p*-CPA; 100mg/Kg/3dias) e submetidos ao exercício submáximo até a fadiga.

Nos animais pré-tratados com SAL i.p. foi observada uma correlação inversa entre a taxa de acúmulo de calor e o tempo total de exercício até a fadiga. Os animais SAL i.p./TRP i.c.v., em função da maior quantidade de calor acumulado, apresentaram um menor tempo total de exercício em relação ao grupo controle (SAL i.p./SAL i.c.v.). No entanto, nos animais pré-tratados com *p*-CPA i.p. não foi observada nenhuma correlação entre a taxa de acúmulo de calor e o tempo total de exercício até a fadiga.

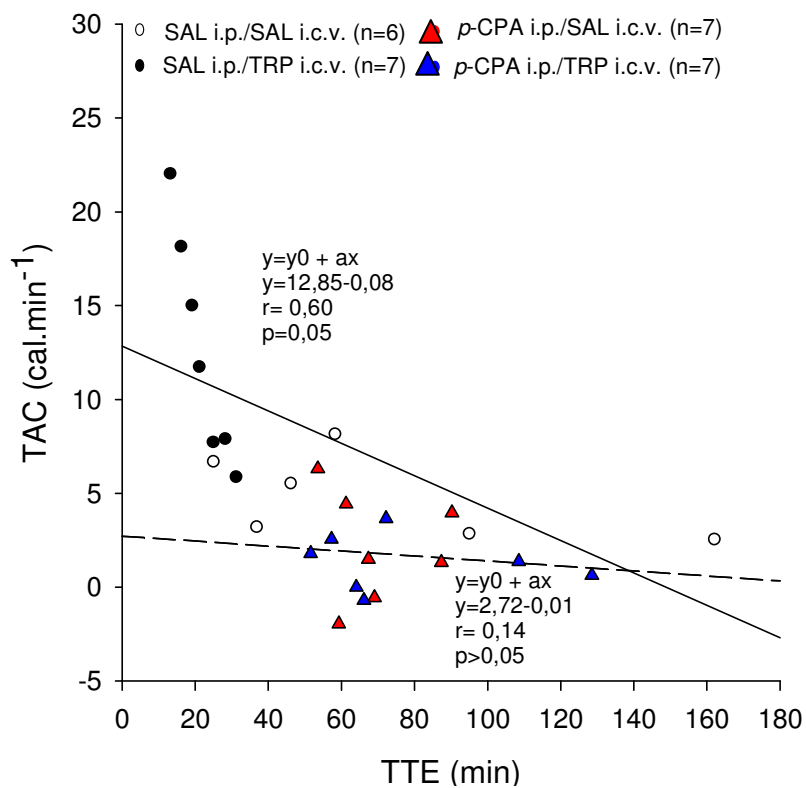


Figura 5.4.5 Efeito da injeção i.c.v. de 2µL de SAL 0,15 M ou de TRP 20,3 µM na correlação entre a taxa de acúmulo de calor (TAC; cal.min<sup>-1</sup>) e o tempo total de exercício até a fadiga (TTE; min.) de ratos não treinados pré-tratados i.p. com SAL ou p-CPA e submetidos ao exercício submáximo até a fadiga. Os dados expressam média.

### 5.4.6 Taxa de elevação da temperatura corporal

A figura 5.4.6 apresenta os valores médios da taxa de elevação da temperatura corporal (TET; °C.min<sup>-1</sup>) após a injeção intracerebroventricular de 2 µL de salina 0,15 M (SAL) ou de L-triptofano 20,3 µM (TRP) em ratos pré-tratados com injeções intraperitoneais (i.p.) de salina (SAL; 0,5mL/100g/3dias) ou de paraclorofenilalanina (*p*-CPA; 100mg/Kg/3dias) e submetidos ao exercício submáximo até a fadiga.

Nos animais que receberam pré-tratamento com SAL i.p., a injeção de TRP aumentou a taxa de elevação da temperatura corporal em relação ao grupo controle (SAL) (0,05 ± 0,01 °C.min<sup>-1</sup> TRP vs. 0,02 ± 0,00 °C.min<sup>-1</sup> SAL; p=0,009). Nos animais pré-tratados com *p*-CPA i.p. e que receberam injeção de TRP i.c.v. a taxa de elevação da temperatura corporal não foi modificada em relação ao grupo controle (SAL) (0,01 ± 0,00 °C.min<sup>-1</sup> SAL vs. 0,01 ± 0,00 °C.min<sup>-1</sup> TRP; n=7).

A injeção de *p*-CPA i.p. provocou redução significativa na taxa de elevação da temperatura corporal nos animais tratados com injeção central de TRP quando comparado com os tratados com SAL i.p. (0,05 ± 0,01 °C.min<sup>-1</sup> SAL i.p./TRP i.c.v. vs. 0,01 ± 0,00 °C.min<sup>-1</sup> *p*-CPA i.p./TRP i.c.v.; p=0,0003). Contudo, não foram observadas diferenças nos grupos tratados com SAL i.p. ou *p*-CPA i.p. e injeção central de SAL (0,01 ± 0,00 °C *p*-CPA i.p./SAL i.c.v. vs. 0,02 ± 0,00 °C SAL i.p./SAL i.c.v.).

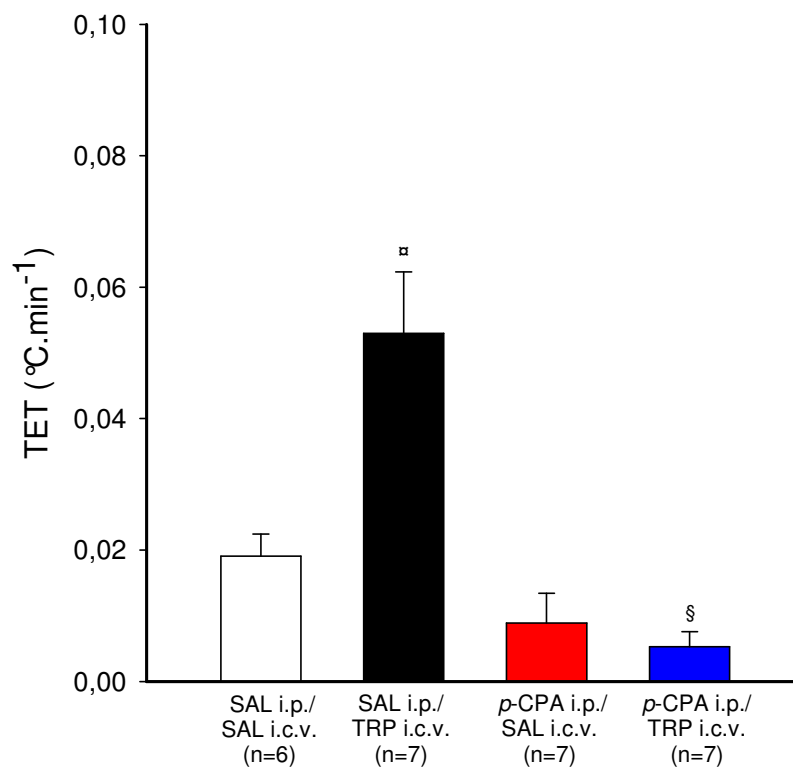


Figura 5.4.6 Efeito da injeção i.c.v. de 2µL de SAL 0,15 M ou de TRP 20,3 µM na taxa de elevação da temperatura corporal (TET; °C.min<sup>-1</sup>) de ratos não treinados pré-tratados i.p. com SAL ou p-CPA e submetidos ao exercício submáximo até a fadiga. Entre os parênteses os valores indicam os números de animais. Os dados expressam média ± EPM. # significante em relação à SAL i.p./SAL i.c.v. (p=0,009); § significante em relação à SAL i.p./TRP i.c.v. (p=0,0003).

### 5.4.7 Correlação entre taxa de elevação da temperatura corporal e o trabalho

A figura 5.4.7 apresenta a correlação entre a taxa de elevação da temperatura corporal (TET; °C.min<sup>-1</sup>) e o trabalho realizado (W; Kgm) após a injeção intracerebroventricular de 2 µL de salina 0,15 M (SAL) ou de L-triptofano 20,3 µM (TRP) em ratos pré-tratados com injeções intraperitoneais (i.p.) de salina (SAL; 0,5mL/100g/3dias) ou de paraclorofenilalanina (*p*-CPA; 100mg/Kg/3dias) e submetidos ao exercício submáximo até a fadiga.

No grupo que recebeu pré-tratamento SAL i.p., a injeção i.c.v. de TRP diminuiu o trabalho realizado em 70% em relação ao grupo controle (SAL) (29,88 ± 8,92 Kgm SAL vs. 8,93 ± 1,00 Kgm TRP; *p*=0,03). Contudo, os animais que receberam *p*-CPA i.p. e foram tratados com TRP i.c.v. não apresentaram modificações no trabalho realizado em relação ao grupo controle (SAL) (33,42 ± 4,16 Kgm TRP vs. 29,60 ± 2,32 Kgm SAL).

O pré-tratamento com *p*-CPA i.p. bloqueou o efeito da injeção central de TRP sobre a produção de trabalho (33,42 ± 4,16 Kgm *p*-CPA i.p./TRP i.c.v. vs. 8,93 ± 1,00 Kgm SAL i.p./TRP i.c.v.; *p*=0,0008). Os animais tratados centralmente com SAL e que receberam *p*-CPA i.p. não modificaram a produção de trabalho quando comparados com o grupo SAL i.p. (29,60 ± 2,32 Kgm *p*-CPA i.p./SAL i.c.v. vs. 29,88 ± 8,92 Kgm SAL i.p./SAL i.c.v.).

Nos animais pré-tratados com SAL i.p. foi observada uma correlação inversa entre a taxa de elevação da temperatura corporal e o trabalho realizado. Os animais SAL i.p./TRP i.c.v., em função da maior quantidade de calor produzida, apresentaram uma menor produção de trabalho em relação ao grupo controle (SAL i.p./SAL i.c.v.). No entanto, nos animais pré-tratados com *p*-CPA i.p. não foi observada nenhuma correlação entre a taxa de elevação da temperatura corporal e o trabalho realizado.

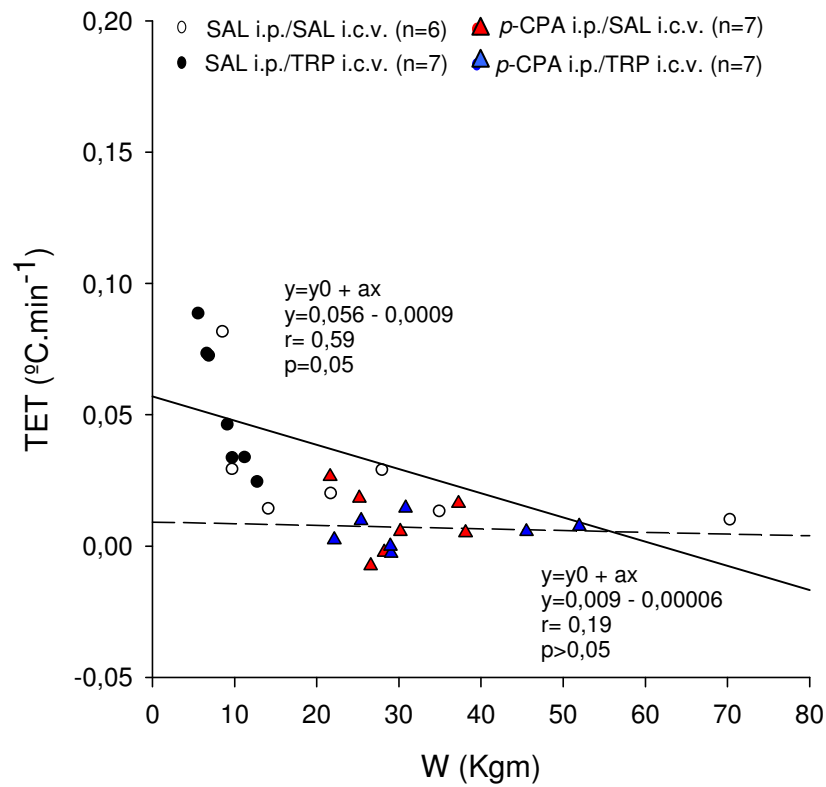


Figura 5.4.7 Efeito da injeção i.c.v. de 2µL de SAL 0,15 M ou de TRP 20,3 µM na correlação entre o trabalho (W; Kgm) e a taxa de elevação da temperatura corporal (TET; °C.min<sup>-1</sup>) de ratos não treinados pré-tratados i.p. com SAL ou p-CPA e submetidos ao exercício submáximo até a fadiga. Os dados expressam média.

#### 5.4.8 Concentração plasmática de glicose e lactato no momento da fadiga

A figura 5.4.8 apresenta os valores médios das concentrações plasmáticas de glicose (mmol/L) e de lactato (mmol/L) no momento da fadiga, após a injeção intracerebroventricular de 2  $\mu$ L de salina 0,15 M (SAL) ou de L-triptofano 20,3  $\mu$ M (TRP) em ratos pré-tratados com injeções intraperitoneais (i.p.) de salina (SAL; 0,5mL/100g/3dias) ou de paraclorofenilalanina (*p*-CPA; 100mg/Kg/3dias).

Os animais que receberam injeção central de TRP, e que receberam pré-tratamento com SAL i.p., não apresentaram variações das concentrações plasmáticas de glicose quando comparado com o grupo controle (SAL) ( $9,87 \pm 0,45$  mmol/L TRP vs.  $9,71 \pm 1,05$  mmol/L SAL). Além disso, entre os tratamentos também não foram observadas diferenças nas concentrações plasmáticas de lactato ( $2,90 \pm 0,25$  mmol/L TRP vs.  $2,77 \pm 0,40$  mmol/L SAL).

Os animais pré-tratados com *p*-CPA i.p., quando tratados com TRP i.c.v. não apresentaram diferenças em relação ao grupo controle (SAL) nas concentrações plasmáticas de glicose ( $8,99 \pm 0,27$  mmol/L TRP vs.  $9,78 \pm 0,33$  mmol/L SAL; n=7) e nas concentrações plasmáticas de lactato ( $2,44 \pm 0,18$  mmol/L TRP vs.  $3,15 \pm 0,49$  mmol/L SAL; n=7).

Comparando-se os efeitos dos pré-tratamentos intraperitoneais, o *p*-CPA i.p. não modificou as concentrações plasmáticas de glicose nos ratos que receberam tratamento central de TRP, quando comparados com SAL i.p. ( $8,99 \pm 0,27$  mmol/L *p*-CPA i.p./TRP i.c.v. vs.  $9,87 \pm 0,45$  mmol/L SAL i.p./TRP i.c.v.). Além disso, também não foram observadas diferenças nas concentrações plasmáticas de lactato ( $2,44 \pm 0,18$  mmol/L *p*-CPA i.p./TRP i.c.v. vs.  $2,90 \pm 0,25$  mmol/L SAL i.p./TRP i.c.v.).

Em relação aos animais que receberam tratamento central de SAL e pré-tratados com *p*-CPA i.p. ou de SAL i.p. também não foram observadas diferenças nas concentrações plasmáticas de glicose ( $9,78 \pm 0,33$  mmol/L *p*-CPA i.p./SAL i.c.v. vs.  $9,71 \pm 1,05$  mmol/L SAL i.p./SAL i.c.v.) e nas de lactato ( $3,15 \pm 0,49$  mmol/L *p*-CPA i.p./SAL i.c.v. vs.  $2,77 \pm 0,40$  mmol/L SAL i.p./SAL i.c.v.).

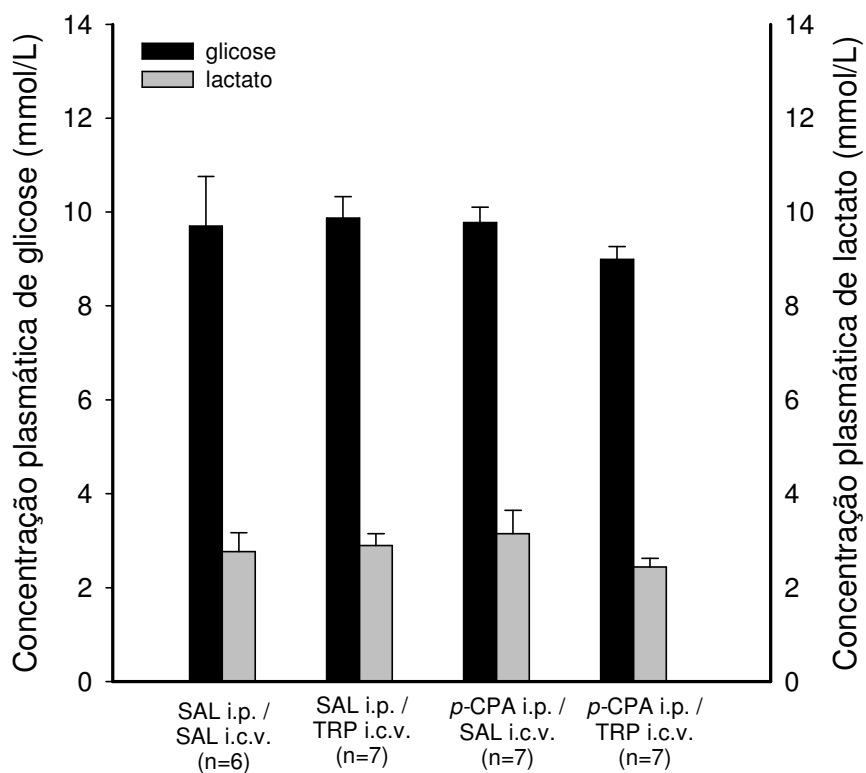


Figura 5.4.8 Efeito da injeção i.c.v. de 2 $\mu$ L de SAL 0,15 M ou de TRP 20,3  $\mu$ M nas concentrações plasmáticas de glicose e de lactato (mmol/L) no momento da fadiga em ratos não treinados pré-tratados com SAL i.p. ou p-CPA i.p. Entre os parênteses os valores indicam os números de animais do grupo. Os dados expressam média  $\pm$  EPM.



## 6 Discussão

Os dados do presente estudo mostram que o aumento da disponibilidade central de TRP promoveu retardo na dissipação de calor, ocasionando um aumento na taxa de acúmulo de calor e na taxa de elevação da temperatura corporal dos animais, com conseqüente redução do tempo total de exercício até a fadiga nestes animais. Isso provavelmente se deveu a um aumento na síntese de 5-HT no SNC destes animais. Por sua vez, o pré-tratamento com *p*-CPA i.p., que impede a conversão do TRP a 5-HT pela inibição da enzima triptofano hidroxilase, bloqueou os efeitos do aumento da concentração central de TRP nessas respostas. Entretanto, nossos resultados não nos permitem afastar um possível efeito desse aminoácido *per si* nos mecanismos de dissipação de calor.

No experimento de repouso foi observado que o posicionamento dos animais durante o período de repouso dentro da esteira rolante não permite que as variáveis fisiológicas desses alcancem valores basais. Assim sendo, é possível que esses animais localizados dentro da esteira rolante se encontrem em constante estado de alerta para a realização do exercício. Essas informações são de suma importância para as novas pesquisas do Laboratório de Fisiologia do Exercício envolvendo experimentos realizados durante o repouso, indicando que talvez uma das formas mais eficazes de manter os animais em repouso seja na gaiola de polietileno.

Como esperado, em nosso estudo, o aumento da disponibilidade central de TRP levou a uma redução no desempenho físico (figura 5.4.1). Entretanto, o bloqueio da conversão de TRP a 5-HT através da inibição da enzima triptofano hidroxilase pelo uso da *p*-CPA i.p. aboliu o efeito ergolítico provocado pelo aumento da disponibilidade central de TRP. Isso sugere que a redução do tempo total de exercício até a fadiga, promovida pela injeção central deste aminoácido, foi devida a um aumento na concentração central de 5-HT. De fato, Soares e cols. (2007) mostraram uma correlação inversa entre o aumento da concentração de 5-HT na área pré-óptica/hipotálamo anterior e o tempo total de exercício nos ratos que receberam injeção i.c.v. de TRP na mesma concentração (20,3 $\mu$ M) e submetidos ao mesmo protocolo experimental do presente estudo.

No presente estudo a administração i.c.v. de TRP em ratos não treinados pré-tratados com SAL i.p. e submetidos a exercício submáximo até a fadiga provocou uma redução de 69% no tempo total de corrida em relação ao grupo controle (SAL i.p./SAL i.c.v.) (figura 5.4.1). Esses dados reproduzem achados anteriores de nosso laboratório, que verificaram que os animais que receberam injeção i.c.v. de TRP, submetidos ao mesmo protocolo experimental de exercício, nas mesmas condições ambientais, apresentaram uma redução de 65% no desempenho físico (SOARES e cols., 2003; 2004; 2007). Por sua vez, Farris e cols. (1998) observaram, em cavalos que receberam infusão de TRP na veia jugular direita, prévia à corrida na esteira rolante a 50% do  $VO_{2max}$ , uma redução no tempo total de corrida até a fadiga em relação ao grupo controle ( $86,1 \pm 6,9$  min. TRP vs.  $102,3 \pm 10,3$  min. controle;  $p \leq 0,05$ ).

Nosso resultado de redução no tempo total de exercício corrobora achados de estudos prévios, que reportaram uma associação entre o aumento da concentração de TRP plasmático ou central e a redução no desempenho físico, evidenciando o envolvimento do sistema serotoninérgico nos mecanismos de fadiga durante o exercício (SOARES e cols., 2003; 2004; 2007; FARRIS e cols., 1998; NEWSHOLME e BLOMSTRAND, 1987;1992). Já está bem definido na literatura que aumentos nas concentrações centrais de TRP provocam aumento na síntese cerebral de 5-HT (SOARES e cols., 2007; FADDA, 2000; DAVIS e cols., 2000; CASTELL e cols., 1999; CHAOULOFF e cols., 1997; SCHAECHTER e WURTMAN, 1989).

Em 1993, Bailey e cols. investigaram a participação direta da 5-HT nos mecanismos de fadiga. No estudo, ratos submetidos à corrida na esteira rolante até a fadiga, quando tratados com injeção intraperitoneal de agonista serotoninérgico apresentaram redução no desempenho físico (~32%) e, quando tratados com injeção intraperitoneal de antagonista serotoninérgico, apresentaram maior tempo de corrida até a fadiga (~28%) em relação ao grupo controle.

Até o presente momento nenhum estudo havia investigado a ação do TRP sem se converter a 5-HT, através da substância *p*-CPA, injetado no VCD no tempo total de exercício até a fadiga em ratos. Essa substância injetada intraperitonealmente durante 3 dias consecutivos na dose de 100mg/Kg/dia reduz as concentrações centrais de 5-HT para ~11% em relação aos valores basais (KOE e WEISSMAN, 1966).

O aumento da disponibilidade central de TRP nos animais pré-tratados com *p*-CPA i.p. não alterou o tempo total de exercício e tampouco foi verificada melhora no desempenho físico desses animais em relação aos animais tratados com SAL i.p./SAL i.c.v e *p*-CPA i.p./SAL i.c.v. (figura 5.4.1). Esses resultados fornecem evidências de que o aminoácido TRP *per si* não possui efeito ergolítico durante o exercício submáximo e fortalecem ainda mais a hipótese do envolvimento do sistema serotoninérgico na antecipação da fadiga. Além disso, também demonstram que a redução das concentrações centrais de 5-HT provocadas pela *p*-CPA i.p. nos animais SAL i.c.v. não foram suficientes para desencadear melhora no desempenho físico em relação aos animais pré-tratados com SAL i.p./SAL i.c.v.

A fadiga é um processo multifatorial e diversos fatores, atuando de forma integrada ou isolada, podem contribuir para a antecipação da interrupção do exercício (RODRIGUES e SILAMI-GARCIA, 1998). No entanto, de acordo com os resultados do experimento atual, parece que a fadiga está relacionada com o envolvimento do aumento da disponibilidade central de TRP induzindo um aumento na síntese cerebral de 5-HT. Essa atuaria nos mecanismos de regulação da temperatura corporal, mas não nas respostas metabólicas, isto é, depleção das concentrações plasmáticas de glicose e acúmulo de lactato. Por outro lado, nos animais *p*-CPA i.p. a interrupção do exercício pode ter sido provocada por outros fatores que não envolvam os efeitos do TRP *per si* e, também, os fatores metabólicos. Até o presente momento nenhuma evidência foi encontrada sobre os efeitos da *p*-CPA nos parâmetros termorregulatórios durante o exercício submáximo até a fadiga.

Durante o exercício físico ocorre um aumento na temperatura corporal, uma vez que, com o aumento da taxa metabólica para atender às demandas energéticas dos músculos ativos, há um desequilíbrio entre os mecanismos de produção e de dissipação de calor, sendo que esse equilíbrio tende a se restabelecer (WEBB, 1995). A 5-HT tem sido descrita como um dos principais neurotransmissores envolvidos na mediação da regulação dos mecanismos de produção e dissipação de calor pelo hipotálamo (ISHIWATA e cols., 2001; SCHWARTZ e cols., 1995).

Portanto, a regulação da temperatura corporal é um importante fator no desencadeamento do processo de fadiga durante o exercício físico (RODRIGUES e cols., 2003; RODRIGUES e cols., 1999; GONZALEZ-ALONSO e cols., 1999; FULLER e cols., 1998; GORDON, 1993). Em ratos, o principal meio de perda de

calor para o ambiente se dá pela vasodilatação cutânea da pele da cauda (GORDON, 1993). Assim, o aumento da temperatura interna tem uma relação direta com o aumento do fluxo sanguíneo para a cauda (RAMAN e cols., 1983). Em 1991, Caputa e Kamari observaram que ratos com temperatura interna acima de 40°C correram menos tempo quando comparados com ratos com temperatura interna abaixo de 38°C. Essa redução no desempenho físico pode ter se dado em função de uma redução do “drive” para o exercício, provocado pelo aumento da temperatura corporal, como já verificado por Brück e Olschewski (1987).

Em nosso estudo, durante o exercício a taxa de acúmulo de calor (figura 5.4.4) e a taxa de elevação da temperatura corporal (figura 5.4.6) foram aproximadamente 63% maiores nos animais tratados com SAL i.p./TRP i.c.v em relação ao grupo controle (SAL i.p./SAL i.c.v.), indicando maior produção de calor e menor dissipação de calor nesses animais. O tratamento prévio com *p*-CPA i.p. bloqueou o aumento promovido pelo TRP tanto na taxa de acúmulo de calor (figura 5.4.4) quanto na taxa de elevação da temperatura corporal (figura 5.4.6). Além disso, observamos uma correlação inversa entre a taxa de acúmulo de calor e o tempo total de exercício (figura 5.4.5) e entre a taxa de elevação da temperatura corporal e o trabalho realizado. (figura 5.4.7). Nos animais pré-tratados com *p*-CPA i.p./TRP i.c.v. essas alterações não só foram bloqueadas, mas como também, esses animais apresentaram uma maior eficiência na dissipação de calor (figura 5.2.3 B), possibilitando um maior tempo de corrida em relação aos animais SAL i.p./TRP i.c.v. (figura 5.4.1). Esses achados sugerem a participação do sistema serotoninérgico na regulação da temperatura corporal, o que vai ao encontro de outros achados na literatura (SOARES e cols., 2003; 2004; 2007; LIN e cols., 1998; MYERS, 1981; FELDBERG e MYERS, 1964).

Após o pré-tratamento com SAL i.p. os animais que receberam injeção i.c.v. de TRP apresentaram um aumento na temperatura interna, que se deu a partir do 7<sup>o</sup> min. de exercício, enquanto, no grupo controle (SAL i.c.v.), esse aumento se deu a partir do 8<sup>o</sup> min. de exercício; contudo, não foi observada nenhuma diferença entre esses dois grupos ao longo do exercício até o momento da fadiga. O aumento na temperatura interna no grupo SAL i.p./TRP i.c.v. promoveu um aumento da temperatura da cauda a partir do 12<sup>o</sup> min. de exercício, enquanto, no grupo controle (SAL i.p./SAL i.c.v.) esse aumento se deu a partir do 14<sup>o</sup> min. de exercício. Em ambos os grupos os aumentos na temperatura da cauda mantiveram-se elevados

até o momento da fadiga, sem que se observassem diferenças entre os grupos ao longo do exercício.

Tendo-se em vista que o tempo total de exercício entre os dois grupos de animais foi diferente ( $70,74 \pm 20,76$  min. SAL i.p./SAL i.c.v. vs.  $22,17 \pm 2,45$  min. SAL i.p./TRP i.c.v.), ao avaliarmos tanto as temperaturas interna, quanto as da cauda em função do percentual do tempo de exercício (%TTE), podemos observar um retardo no início do aumento da temperatura da cauda nos ratos tratados com TRP i.c.v. em relação ao grupo controle (SAL i.c.v.). Nos animais pré-tratados com SAL i.p. e que receberam injeção i.c.v. de TRP o aumento na temperatura interna ocorre aos 32% do TTE e da cauda com 55% do TTE. Enquanto, no grupo controle (SAL i.p./SAL i.c.v.), o aumento na temperatura interna ocorre aos 11% do TTE e da cauda com 20% do TTE. Esses resultados indicam que a maior disponibilidade central de TRP provocou um retardo no início do aumento da temperatura da cauda. Esses aumentos nas temperaturas das caudas nos grupos TRP i.c.v. e SAL i.c.v. ocorrem em resposta aos aumentos das temperaturas internas, na tentativa de manter um equilíbrio entre os mecanismos de produção e dissipação de calor.

Nossos resultados sobre o índice de dissipação de calor reproduzem as respostas encontradas na temperatura da cauda durante o exercício nos ratos pré-tratados com SAL i.p. após a injeção central de SAL ou TRP. Assim, no grupo SAL i.p./TRP i.c.v. o aumento no índice de dissipação de calor ocorreu a partir do 12<sup>o</sup> min. de exercício, que equivale a 55% do TTE, enquanto que no grupo SAL i.p./SAL i.c.v. esse aumento foi a partir do 14<sup>o</sup> min. de exercício, que corresponde a 20% do TTE (figura 5.4.3 A).

Os animais pré-tratados com SAL i.p. e que receberam injeção central de SAL ou TRP apresentam no início do exercício redução na temperatura da cauda, sugerindo uma vasoconstrição, a fim de manter a perfusão sangüínea. Porém, neste momento a temperatura da cauda não foi estatisticamente diferente daquela no momento inicial da corrida (figura 5.4.2 A). Após alguns minutos de exercício, observa-se, em ambos os grupos experimentais, um aumento na temperatura da cauda, desencadeado por um redirecionamento do fluxo sangüíneo cutâneo para essa região, que se deu provavelmente em resposta ao aumento da temperatura interna, como já observado em estudo anterior por Raman e cols. (1983).

Ao contrário do observado nos animais pré-tratados com SAL i.p./TRP i.c.v., quando pré-tratados com *p*-CPA i.p./TRP i.c.v., a temperatura interna não se

modificou durante o exercício. Essa manutenção foi devido a um aumento agudo na temperatura da cauda em relação aos animais SAL i.p./TRP i.c.v. (figura 5.2.2 B), evidenciando que o bloqueio da conversão de TRP a 5-HT permitiu um aumento acentuado na temperatura da cauda, sugerindo um maior redirecionamento do fluxo sanguíneo para essa região. Em paralelo, os animais *p*-CPA i.p./SAL i.c.v. também não apresentaram modificação da temperatura interna ao longo do exercício, também devido a um aumento acentuado da temperatura da cauda durante o exercício em relação ao grupo SAL i.p./SAL i.c.v. (figura 5.2.2 A). Isto sugere que a *p*-CPA ao reduzir as concentrações centrais de 5-HT, remove a ação de redução da dissipação de calor desse neurotransmissor, sugerida por Soares e cols. (2004). O índice de dissipação de calor reproduz os dados da temperatura da cauda, indicando uma antecipação desses mecanismos no início do exercício, nos animais que receberam injeção i.c.v. de SAL ou TRP e que foram pré-tratados com *p*-CPA i.p., em relação aos animais pré-tratados com SAL i.p.

Em relação aos animais pré-tratados com *p*-CPA i.p., quando tratados com injeção central de SAL ou TRP, verificou-se uma redução não significativa na temperatura da cauda no início do exercício. Ainda em relação a esses animais foi verificada uma maior temperatura da cauda nos ratos tratados com TRP i.c.v em relação ao grupo controle (*p*-CPA i.p./SAL i.c.v.) no 8<sup>o</sup> e 10<sup>o</sup> min. de exercício, o que poderia sugerir uma ação do TRP *per se* na vasodilatação periférica; contudo, essa resposta não se manteve ao longo do período de exercício (figura 5.4.2 B). Uma possível ação direta do TRP sobre as respostas termorregulatórias foi anteriormente sugerida por Serra e cols. (1992). Esses autores propuseram uma ação termogênica desse aminoácido, uma vez que em ratos a injeção i.c.v. de TRP causou aumento no consumo de oxigênio de repouso dos mesmos, o qual não foi abolido quando os animais foram pré-tratados com metisergida, um antagonista serotoninérgico. Portanto, Serra e cols. (1992) sugeriram que a ação termogênica do TRP não é mediada pela liberação de 5-HT, mas sim por uma via independente desse neurotransmissor. Assim, não afastamos a hipótese de que, nos ratos pré-tratados com *p*-CPA i.p. e submetidos ao exercício submáximo, o TRP possa promover alteração na temperatura da cauda e no índice de dissipação de calor e que talvez, no presente estudo, em função da concentração de TRP usada, esse efeito não foi tão evidente.

A integração de nossos dados sugere que o aumento na disponibilidade central de TRP interfere na regulação dos mecanismos de dissipação de calor durante o exercício, uma vez que retardou o início da elevação da temperatura da cauda, elevou a quantidade de calor acumulado e, conseqüentemente promoveu alterações no tempo total de corrida. Além disso, parece evidente que essas ações do TRP são dependentes da via serotoninérgica, uma vez que, com a redução das concentrações centrais de 5-HT, provocadas pela *p*-CPA i.p., há aumento agudo nos mecanismos de dissipação de calor que se refletiu em maior desempenho físico dos animais.

Sharma e cols. (1996) observaram que ratos pré-tratados com *p*-CPA i.p., na mesma dose do estudo atual, e submetidos a um exercício de natação, apresentaram uma redução na temperatura interna, provavelmente devido a um aumento na dissipação de calor. Contudo, no estudo de Sharma e cols. (1996) não foram realizadas medidas da temperatura da cauda dos animais, que seriam indicativos do desvio de fluxo sanguíneo para a região para dissipar calor. Já em um estudo realizado por Giacchino e cols. (1983), ratos pré-tratados com *p*-CPA i.p. e mantidos em repouso, quando expostos a temperatura ambiente elevada (~32°C) apresentaram dificuldade na capacidade de perder calor para o ambiente. Os dados do presente estudo sugerem que a *p*-CPA possui uma ação vasodilatadora por diminuir as concentrações centrais de 5-HT, contrariando Giacchino e cols. (1983) que sugerem um efeito vasoconstritor desta substância. A divergência entre nosso estudo e o de Giacchino e cols. (1983) sobre a ação da *p*-CPA na capacidade de dissipar calor pode ter se dado em função das diferenças metodológicas existentes entre os estudos.

No presente estudo foi observado que no momento da fadiga os animais pré-tratados com SAL i.p. e que receberam injeção i.c.v. de SAL ou TRP, interromperam o exercício em momentos distintos, sem apresentar diferenças na temperatura interna (~38,55°C). Além disso, também não foram verificadas diferenças na temperatura interna no momento da fadiga (~38,39°C) entre os animais pré-tratados com *p*-CPA i.p. e tratados centralmente com SAL ou TRP. Esses resultados concordam com os de Soares e cols. (2004) que observaram que os animais tratados com injeção i.c.v. de TRP ou SAL não apresentaram diferenças na temperatura interna no momento da fadiga (~38,18°C), embora esta tenha se dado em momentos diferentes.

Alguns autores têm sugerido que a fadiga durante o exercício, tanto em humanos quanto em animais, é desencadeada pelo alcance de uma temperatura interna crítica (WALTERS e cols., 2000; GONZÁLEZ-ALONSO e cols., 1999; FULLER e cols., 1998). Fuller e cols. (1998) verificaram que ratos expostos a diferentes condições de estresse térmico quando submetidos a exercício até a fadiga, interromperam o esforço físico em tempos distintos com a mesma temperatura abdominal ( $\sim 39,9^{\circ}\text{C}$ ). Nesta mesma linha, Walters e cols. (2000) mostraram que animais pré-aquecidos em diferentes intensidades de radiação, quando submetidos ao exercício alcançaram a fadiga com tempos diferentes, porém com a mesma temperatura interna ( $\sim 42,5^{\circ}\text{C}$ ). Em outro estudo, homens pré-aquecidos e submetidos a exercício ( $\sim 60\% \text{VO}_{2\text{max}}$ ) até a fadiga em ambiente quente apresentaram tempos de exercício diferentes e semelhantes temperaturas esofagianas ( $\sim 40,1-40,2^{\circ}\text{C}$ ) e temperaturas musculares ( $40,7-40,9^{\circ}\text{C}$ ) (GONZÁLEZ-ALONSO e cols., 1999). Entretanto, outros autores não têm confirmado esses resultados. Em 1986, Hubbard e Armstrong concluíram que a taxa de acúmulo de calor é fator determinante do desempenho físico, apresentando uma correlação inversa entre taxa de acúmulo de calor e tempo total de exercício. Rodrigues e cols. (2003) observaram que ratos submetidos a diferentes intensidades de exercício em condições diversas de estresse ambiental interromperam o exercício com tempos diferentes, porém com temperaturas internas distintas. Mostraram também correlação inversa entre intensidade do exercício, temperatura ambiente e tempo de corrida até a fadiga. Outro trabalho realizado em nosso laboratório observou que ratos tratados com injeção de metilatropina no núcleo ventromedial e submetidos a exercício até a fadiga apresentaram uma correlação inversa entre taxa de acúmulo de calor e tempo total de exercício até a fadiga (WANNER e cols., 2007).

Apesar de, no presente estudo, os animais interromperem o exercício com a mesma temperatura interna, os valores foram inferiores aos propostos pela literatura como críticos para a continuidade do exercício (WALTERS e cols., 2000; GONZÁLEZ-ALONSO e cols., 1999; FULLER e cols., 1998) e que predis põem os animais a risco hipertérmico. Hubbard e cols. (1977) indicam que a hipertermia severa se dá acima da temperatura central de  $40,4^{\circ}\text{C}$ .

Nossos achados e os de outros autores (WANNER e cols., 2007; SOARES e cols., 2003; 2004; RODRIGUES e cols., 2003) sugerem que talvez a taxa de acúmulo de calor e, também, a taxa de elevação da temperatura corporal (LEITE e



cols., 2006; LACERDA e cols., 2005; SOARES e cols., 2004) estejam mais relacionadas à instalação da fadiga do que o alcance de uma temperatura interna crítica. Assim como Soares e cols. (2003; 2004) também verificamos que houve correlação inversa entre o aumento na taxa de acúmulo de calor e o tempo total de exercício até a fadiga (figura 5.4.5) e entre o aumento na taxa de elevação da temperatura corporal e o trabalho realizado (figura 5.4.7). Cabe ressaltar que, quando os animais receberam pré-tratamento com *p*-CPA i.p., isto é, tiveram a conversão de TRP a 5-HT bloqueada, as respostas desencadeadas pelo aumento da disponibilidade central de TRP nas taxas de acúmulo de calor e de elevação da temperatura corporal e suas correlações com o tempo total de exercício até a fadiga e com o trabalho produzido, foram abolidas. Esses resultados permitem sugerir que o aumento da síntese de 5-HT, provocado pelo aumento da disponibilidade central de TRP, possui ação efetiva nos ajustes termorregulatórios durante o exercício, concordando com o já observado por nosso grupo (SOARES e cols.; 2003; 2004; 2007).

Assim, o aumento da disponibilidade central de TRP, sem seu bloqueio a 5-HT, promoveu interrupção antecipada do esforço físico nos animais. A remoção da participação da via serotoninérgica, com a utilização do inibidor da enzima triptofano hidroxilase não provocou melhora no desempenho dos animais *p*-CPA i.p./SAL i.p. em relação ao grupo SAL i.p./SAL i.c.v. Isto sugere que em concentrações aumentadas a 5-HT exerce efeito ergolítico sobre o desempenho físico por interferir nos ajustes termorregulatórios. Contudo, a redução nas concentrações centrais de 5-HT provocadas pela *p*-CPA não foi capaz de produzir efeito ergogênico, mesmo melhorando a dissipação de calor. Além disso, o TRP *per si* não ocasionou nenhuma modificação no desempenho físico.

Nenhuma alteração nas concentrações plasmáticas de glicose e de lactato no momento da fadiga foi observada entre os animais pré-tratados com SAL i.p. e que receberam injeção i.c.v. de TRP em relação ao grupo controle (SAL i.p./SAL i.c.v.) (figura 5.4.8). Esses dados sugerem que o aumento da disponibilidade central de TRP não influenciou as respostas metabólicas durante o exercício. Isto também foi mostrado por Farris e cols. (1998) que verificaram, em um estudo com cavalos, que a infusão de TRP na veia jugular não provocou alterações nas concentrações plasmáticas de glicose durante o exercício, evidenciando que a interrupção antecipada do exercício nesses animais não ocorreu devido a alterações nas

respostas metabólicas. Em estudo prévio realizado em nosso laboratório, ratos tratados com injeção i.c.v. de TRP e submetidos a exercício não apresentaram diferenças nas concentrações plasmáticas de glicose e de lactato durante o exercício submáximo e no momento da fadiga (SOARES, 2004).

Este é o primeiro estudo a avaliar, em animais pré-tratados com *p*-CPA i.p., as respostas metabólicas de animais submetidos a exercício submáximo no instante da fadiga. Os nossos animais *p*-CPA i.p./TRP i.c.v. não apresentaram diferenças nas concentrações plasmáticas de glicose e de lactato no momento da fadiga em relação ao grupo controle (*p*-CPA i.p./SAL i.c.v.) (figura 5.4.8). Sugerimos, portanto, que o TRP *per si* não modificou as respostas metabólicas destes animais ao exercício. Além disso, também não foram verificadas diferenças nas concentrações plasmáticas de glicose e de lactato no momento da fadiga entre os animais que receberam pré-tratamento i.p. de SAL e *p*-CPA (figura 5.4.8), independente de terem recebido SAL ou TRP i.c.v. Esses dados reforçam ainda mais que as respostas metabólicas em ratos submetidos a exercício submáximo no momento da fadiga são independentes da ação da 5-HT e/ou do TRP *per si*.

Nosso grupo de pesquisa desenvolveu um modelo sugerindo os mecanismos pelos quais o sistema serotoninérgico poderia modular a regulação da temperatura corporal e o desempenho físico (figura 6 A). Durante o exercício físico ocorre um aumento da disponibilidade central de TRP, o qual induz um aumento na biossíntese de 5-HT. Esse neurotransmissor, como já evidenciado em estudo anterior do nosso laboratório, atua na APO/HA e, talvez, possa modular o metabolismo e o tônus vascular de forma direta ou de forma indireta a partir da inibição ou excitação de receptores, promovendo uma ativação do sistema nervoso autônomo. De acordo com os resultados do presente estudo, o aumento da disponibilidade central de TRP, induzindo um aumento na síntese de 5-HT, ocasionou um aumento no metabolismo e no tônus vasomotor, promovendo aumento nas taxas de acúmulo de calor e de elevação da temperatura corporal, desencadeando uma resposta de redução do desempenho físico, sem causar qualquer modificação nas concentrações plasmáticas de glicose e lactato. Contudo, essas alterações foram bloqueadas com a utilização da substância *p*-CPA, que impediu a conversão de TRP a 5-HT, provavelmente em função da remoção da ação desse neurotransmissor na APO/HA (figura 6 B).

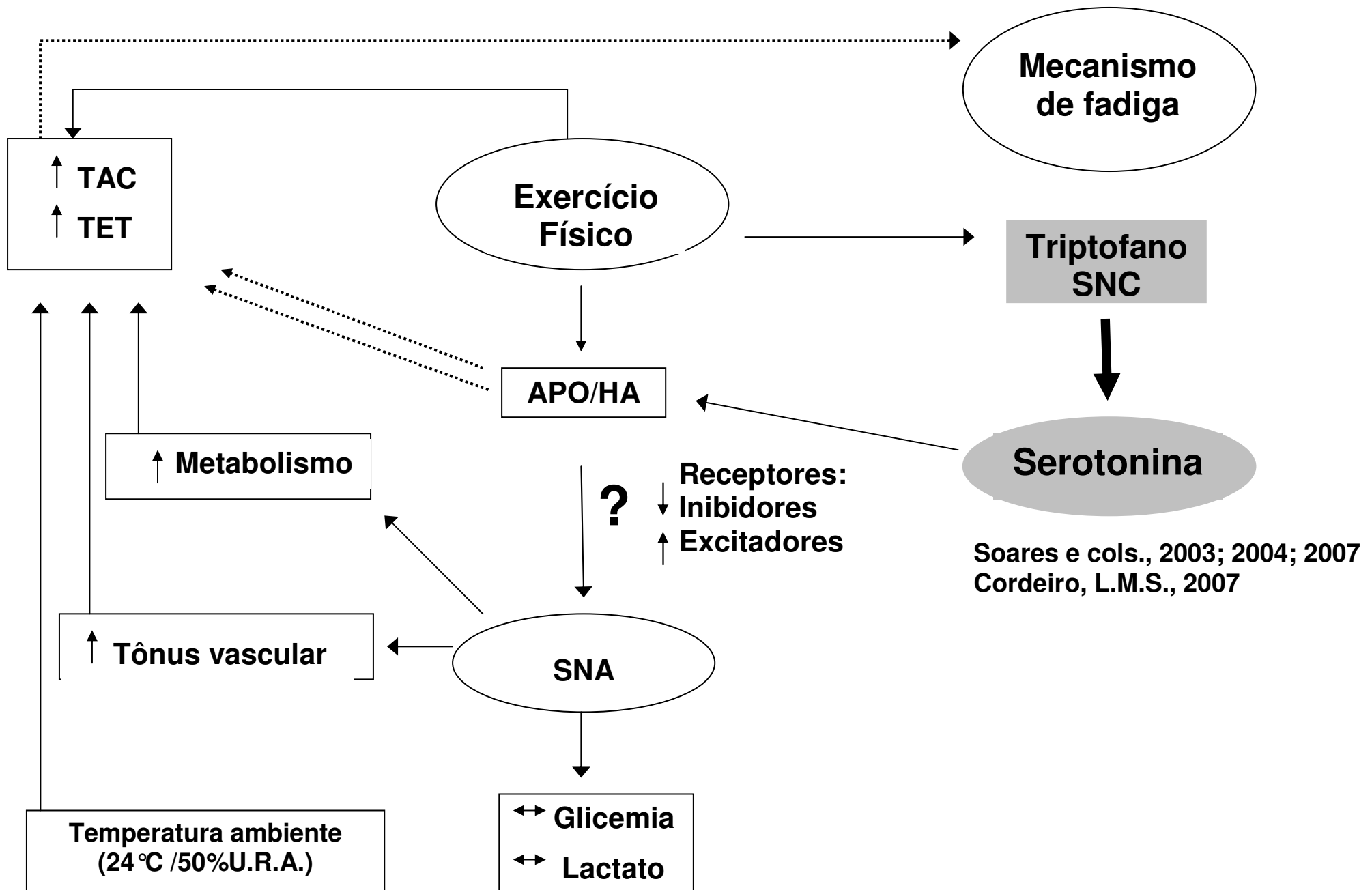


Figura 6 (A): Mecanismo de ação da 5-HT nas respostas termorregulatórias e no desempenho físico

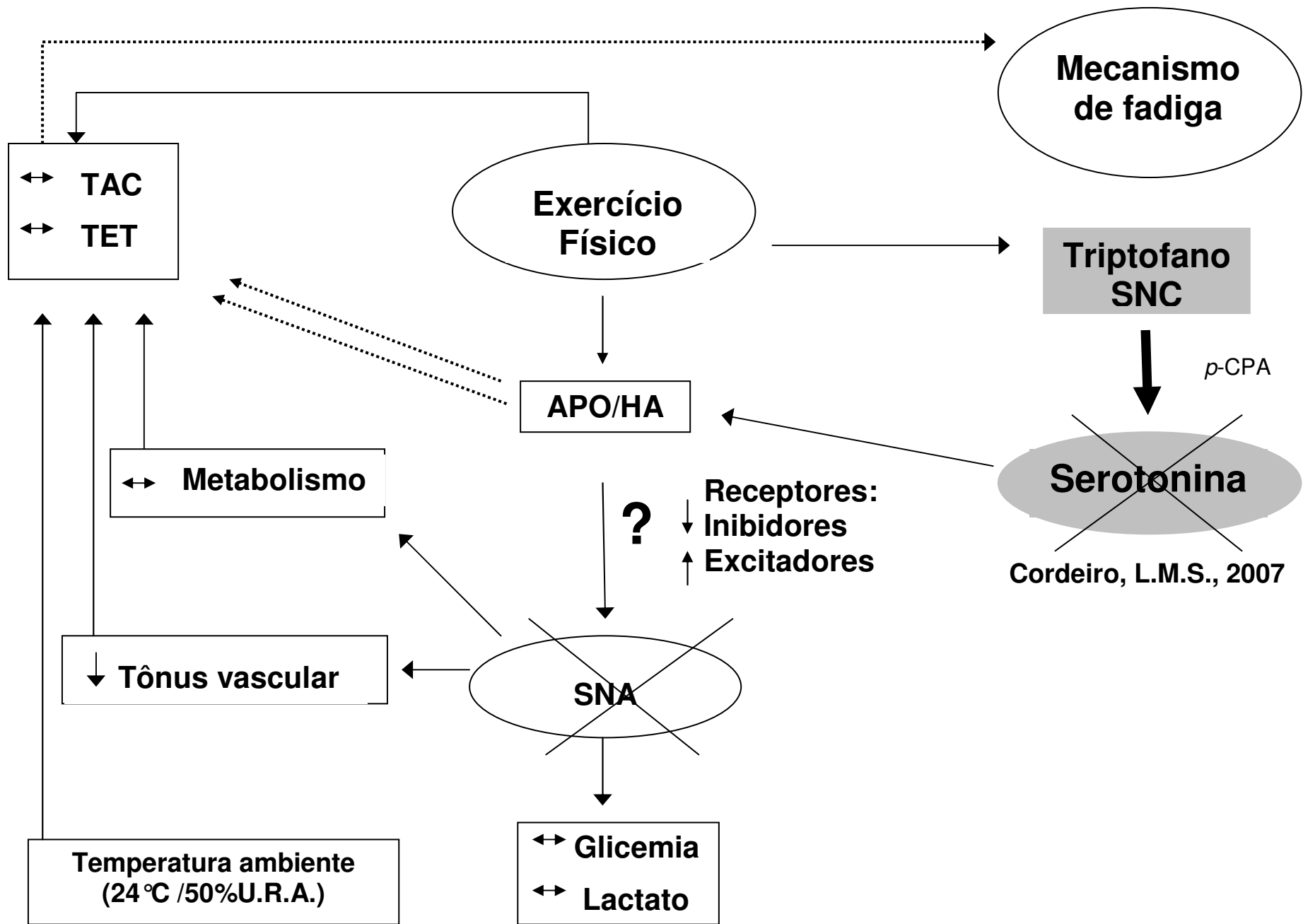


Figura 6 (B): Bloqueio do mecanismo de ação da 5-HT nas respostas termorregulatórias e no desempenho físico

## **7 Conclusão**

O aumento da disponibilidade central de TRP, nos ratos pré-tratados com SAL i.p., promoveu um retardo nos mecanismos de dissipação de calor, ocasionando um aumento nas taxas de acúmulo de calor e de elevação da temperatura corporal, desencadeando uma antecipação da interrupção do exercício sem que qualquer alteração nas concentrações plasmáticas de glicose ou lactato fossem observadas.

A administração de *p*-CPA i.p., inibidora da enzima triptofano hidroxilase, que impede a conversão de TRP a 5-HT, promoveu bloqueio da ação do TRP observadas nas respostas termorregulatórias e no desempenho físico.

Em conjunto, esses dados evidenciam que os efeitos causados pelo aumento da disponibilidade central de TRP nos mecanismos de fadiga durante o exercício decorreram de um provável aumento na concentração central de 5-HT no SNC e não a uma ação direta desse aminoácido.

## Referências Bibliográficas

1. **ANTUNES-RODRIGUES, J. and MCCANNS, S.M.** *Water, Sodium Chloride and Food Intake Induced by Injections of Cholinergic and Adrenergic Drugs into the Third ventricle of the Brain.* Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 133: 1464-1470, 1970.
2. **BAILEY, S.P., DAVIS, J.M. and AHLBORN, E.N.** *Effect of increased brain serotonergic activity on endurance performance in the rat.* Acta Physiologica Scandinavica. 145: 75-76, 1992.
3. **BAILEY, S.P., DAVIS, J.M. and AHLBORN, E.N.** *Neuroendocrine and substrate responses to altered brain 5-HT activity during prolonged exercise to fatigue.* Journal Applied Physiology. 74(6): 3006-3012, 1993.
4. **BARCHAS, J.D. and FREEDMAN, D.X.** *Brain amines: response to physiological stress.* Biochem. Pharmacol.12: 1232-1235, 1963.
5. **BÉQUET, F., GOMEZ-MERINO,D., BERTHELOT, M. and GUEZENNEC, C.Y.** *Evidence that brain glucose availability influences exercise-enhanced extracellular 5-HT level in hippocampus: a microdialysis study in exercising rats.* Acta Physiologica Scandinavica. 176: 65-69, 2002.
6. **BLOMSTRAND, E.** *A Role for Branched-Chain Amino Acids in Reducing Central Fatigue.* The Journal of Nutrition. 136: 544S-547S, 2006.
7. **BLOMSTRAND,E., PERRETT, D., PARRY-BILLINGS, M., NEWSHOLME, E.A.** *Effect of sustained exercise on plasma amino acid concentrations and on 5-hydroxytryptamine metabolism in six different brain regions of the rat.* Acta Physiologica Scandinavica. 136: 473-481, 1989.
8. **BROOKS, G.A. and WHITE, T.P.** *Determination of metabolic and heart rate responses of rats to treadmill exercise.* Journal Applied Physiology. 45: 1009-1015, 1978.
9. **BRÜCK, K. and OLSCHIEWSKI, H.** *Body temperature related factors diminishing the drive to exercise.* Can. J. Physiol. Pharmacol. 65: 1274-1280, 1987.
10. **CALDERS, P., PANNIER, J.L., MATTHYS, D.M. and LACROIX, E.M.** *Pre-exercise branched-chain amino acid administration increases performance in rats.* Medicine Science Sports Exercise. 29: 1182-1186, 1997.
11. **CAPUTA, M. and KAMARI, A.** *Exercise performance of normothermic and hyperthermic rats: effect of warm rearing.* J. Therm. Biol. 16: 363-366, 1991.

12. **CASTELL, L.M., YAMAMOTO, T., PHOENIX, J. and NEWSHOLME, E.A.** *The role of tryptophan in fatigue in different conditions of stress.* Adv. Exp. Med. Biol. 467: 697-704, 1999.
13. **CHAOULOFF, F.** *Effects of acute physical exercise on central serotonergic systems.* Medicine Science Sports Exercise. 29(1): 58-62, 1997.
14. **CHAOULOFF, F.** *Physical exercise and brain monoamines: a review.* Acta Physiologica Scandinavica. 137: 1-13, 1989.
15. **CHAOULOFF, F., ELGHOZI, J.L., GUEZENNEC, Y. and LAUDE, D.** *Effects of conditioned running on plasma, liver and brain tryptophan and on brain 5-hydroxytryptamine metabolism of the rat.* Br. J. Pharmacology. 86: 33-41, 1985.
16. **CHAOULOFF, F., KENNETT, G.A., SERRURIER, B., MERINO, D. and CURZON, G.** *Amino acid analysis demonstrates that increased plasma free tryptophan causes the increase of brain tryptophan during exercise in the rat.* J. Neurochem. 46: 1647-1650, 1986.
17. **COIMBRA, C.C. and MIGLIORINI, R.H.** *Cold-induced free fatty acid mobilization is impaired in rats with lesions in preoptic area.* Neurosci Lett 88: 1-5, 1988.
18. **DAVIS, J.M. and BAILEY, S.P.** *Possible mechanism of central nervous system fatigue during exercise.* Med. Sci. Sports Exerc., v.29(1): 45-57, 1997.
19. **DAVIS, J.M., ALDERSON, N.L. and WELSH, R.S.** *Serotonin and central nervous system fatigue: nutritional considerations.* Am. J. Clin. Nutr. 78: 573S-578S, 2000.
20. **DE GROOT, J.** *The rat forebrain stereotaxic coordinates.* Proc. K. Ned. Wet. 62: 1-40, 1959.
21. **DENIZEAU, F. and SOURKES, T.L.** *Regional transport of tryptophan in rat brain.* Journal of Neurochemistry. 28: 951-959, 1977.
22. **DRINGENBERG, H.C., HARGREAVES, E.L., BAKER, G.B., COOLEY, R.K. and VANDERWOLF, C.H.** *p-Chlorophenylalanine-induced serotonin depletion: reduction in exploratory locomotion but no obvious sensory-motor deficits.* Behavioural Brain Research. 68: 229-237, 1995.
23. **FADDA, F.** *Tryptophan-Free Diets: A Physiological Tool to Study Brain Serotonin Function.* News Physiol. Sci., 15: 260-264, 2000.

24. **FARRIS, J.W., HINCHELIF, K.W., McKEEVER, K.H., LAMB, D.R. and THOMPSON, D.L.** *Effect of tryptophan and of glucose on exercise capacity of horses.* Journal applied physiology. 85: 807-816, 1998.
25. **FELDBERG, W. and MYERS, R.D.** *Changes in temperature produced by microinjections of amines into the anterior hypothalamus of cats.* J. Physiol. (London). 177: 239-245, 1965.
26. **FELDBERG, W. and MYERS, R.D.** *Effects on temperature of amines injected into the cerebral ventricles. A new concept of temperature regulation.* J. Physiol. (Lond). 173: 226-237, 1964.
27. **FERNSTROM, J.D. and FERNSTROM, M.H.** *Exercise, Serum Free Tryptophan and Central Fatigue.* The Journal of Nutrition. 136: 553S-559S, 2006.
28. **FERNSTROM, J.D. and WURTMAN, R.J.** *Brain serotonin content: physiological regulation by plasma neutral amino acids.* Science. 178: 414-416, 1972.
29. **FERNSTROM, M.H., MASSOUDI, M.S., FERNSTROM, J.D.** *Effect of 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino)-tetralin on the tryptophan-induced increase in 5-hydroxytryptophan accumulation in rat brain.* Life Sci. 47: 283-289, 1990.
30. **FRANCESCONI, R.P. and MAGER, M.** *L-Tryptophan: effects on body temperature in rats.* American Journal of Physiology. 227(2): 402-405, 1974.
31. **FULLER, A., CARTER, R.N. and MITCHELL, D.** *Brain and abdominal temperatures at fatigue in rats exercising in the heat.* Journal Applied Physiology. 84(3): 877-883, 1998.
32. **GALBO, H.** *The hormonal response to exercise.* Proceedings of the Nutrition Society, 44: 257-266, 1985.
33. **GALLAGER, D.W. and AGHAJANIAN, G.K.** *Raphe origin of serotonergic neurons terminating in the cerebral ventricles.* Brain Research. 88: 221-231, 1975.
34. **GIACCHINO, J.L., SCHERTEL, E.R., HOROWITZ, J.M and HORWITZ, B.A.** *Effect of p-chlorophenylalanine on thermoregulation in unrestrained rats.* American Journal of Physiology: Regulatory Integrative Comp. Physiol. 244: R299-R302, 1983.
35. **GOMEZ-MERINO, D., BÉQUET, F., BERTHELOT, M., CHENNAOUI, M., GUEZENNEC, C.Y.** *Site-dependent effects of an acute intensive exercise on extracellular 5-HT and 5-HIAA levels in rat brain.* Neuroscience Letters. 301: 143-146, 2001.
36. **GONZALES-ALONSO, J., TELLER, C., ANDERSEN, S.L., JENSEN, F.B., HYLDIG, T. and NIELSEN, B.** *Influence of body temperature on the development of*



*fatigue during prolonged exercise in the heat.* Journal Applied Physiology. 86: 1032-1039, 1999.

37. **GORDON, C.J.** *Temperature Regulation in Laboratory Rodents.* Cambridge, UK: Cambridge University Press, 1993.

38. **HOAR, W.S.** *General and comparative physiology.* 1<sup>st</sup>ed. Prentice-Hall Inc. Englewood Cliffs, New Jersey, USA, 305-338, 1966.

39. **HUBBARD, R.W. and ARMSTRONG, L.E.** *The heat illnesses: biochemical, ultrastructural and fluid-electrolyte considerations.* In: Pandolf, K.B., Sawka, M.N. and Gonzales, R.R. (Editors), *Human Performance Physiology and Environmental Medicine at Terrestrial Extremes.* Cooper Publishing Group, Carmel, IN, USA, 305-359, 1986.

40. **HUBBARD, R.W., BOWERS, W.D., MATTHEW, W.T., CURTIS, F.C., CRISS, R.E.L., SHELDON, G.M. and RATTEREE, J.W.** *Rat model of acute heatstroke mortality.* Journal Applied Physiology. 42(6): 809-816, 1977.

41. **HUBBARD, R.W., MATTHEW, W.T. LINDUSKA, J.D., CURTIS, F.M., BOWERS, W.D., LEAV, I. and MAGER, M.** *The laboratory rat as a model for hyperthermic syndromes in humans.* American Journal of Physiology. 231(4): 1119-1123, 1976.

42. **HUNTER, S.K., DUCHATEAU, J. and ENOKA, R.M.** *Muscle Fatigue and the Mechanisms of Task Failure.* Exercise Sport Science. 32(2): 44-49, 2004.

43. **HUSSAIN, S.O., BARBATO, J.C., KOCH, L.G., METTING, P.J. and BRITTON, S.L.** *Cardiac function in rats selectively bred for low- and high-capacity running.* American Journal of Physiology: Regulatory Integrative Comp. Physiol. 281: R1787-1791, 2001.

44. **ISHIWATA, T., HASEGAWA, H., YASUMATSU, M., AKANO, F., YAZAWA, T. OTOKAWA, M. and AIHARA, Y.** *The role of preoptic area and anterior hypothalamus and median raphe nucleus on thermoregulatory system in freely moving rats.* Neuroscience Letters. 306: 126-128, 2001.

45. **JACKSON, B.P. and WIGHTMAN, R.M.** *Dynamics of 5-hydroxytryptamine released from dopamine neurons in the caudate putamen of the rat.* Brain Research. 674: 163-166, 1995.

46. **JÉQUIER, E., LOVENBERG, W. and SJOERDSMA, A.** *Tryptophan Hydroxylase Inhibition: the Mechanism by Which p-chlorophenylalanine depletes rat brain serotonin.* Mol. Pharmacol. 3: 274-278, 1967.

47. **KAYSER, B.** *Exercise starts and ends in the brain.* European Journal Applied Physiology. 90: 411-419, 2003.
48. **KNOTT, P.J. and CURZON, G.** *Free tryptophan in plasma and brain tryptophan metabolism.* Nature. 239, 1972.
49. **KOE, B.K. and WEISSMAN, A.** *p-chlorophenylalanine: a specific depletor of brain serotonin.* The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. 154(3): 499-516, 1966.
50. **LACERDA, A.C.R., MARUBAYASHI, U. and COIMBRA, C.C.** *Effect of intracerebroventricular injection of atropine on metabolic responses during exercise in untrained rats.* Brain Research Bulletin. 67(1-2): 110-116, 2005.
51. **LE FEUVRE, R.A., AISENTHAL, L. and ROTHWELL, N.J.** *Involvement of corticotrophin releasing factor (CRF) in the thermogenic and anorexic actions of serotonin (5-HT) and related compounds.* Brain Research. 555: 245-250, 1991.
52. **LEITE, L.H.R., LACERDA, A.C.R., MARUBAYASHI, U. and COIMBRA, C.C.** *Central angiotensin AT1-receptor blockade affects thermoregulation and running performance in rats.* American Journal of Physiology: Regulatory Integrative Comp. Physiol. 291: R603-607, 2006.
53. **LIMA, H.R.C., CAVALCANTE-LIMA, H.R., CEDRAZ-MERCEZ, P.L., COSTA-E-SOUZA, R.H., OLIVARES, E.L., BADAUÊ-PASSOS-Jr, D., MEDEIROS, M.A., CÔRTEZ, W.S. and REIS, L.C.** *Brain serotonin depletion enhances the sodium appetite induced by sodium depletion or beta-adrenergic stimulation.* Annals of the Brazilian Academy of Sciences. 76(1): 85-92. 2004.
54. **LIN, M.T., TSAY, H.J., SU, W.H. and CHUEH, F.Y.** *Changes in extracellular serotonin in rat hypothalamus affect thermoregulatory function.* American Journal of Physiology: Regulatory Integrative Comp. Physiol. 274: R1260-R1267, 1998.
55. **MACLAREN, D.P.M., GIBSON, H., PARRY-BILLINGS, M. EDWARDS, R.H.T.** *A review of metabolic and physiological factors in fatigue.* In: Exercise and Sports Review, n.17, 29-66, 1989.
56. **MARINO, F.E.** *Anticipatory regulation and avoidance of catastrophe during exercise-induced hyperthermia.* Comparative Biochemistry and Physiology, Part B 139: 561-569, 2004.
57. **MEEUSEN, R. and DE MEIRLEIR, K.** *Exercise and brain neurotransmission.* Sports Med. 20(3): 160-188, 1995

58. **MEEUSEN, R., WATSON, P. and DVORAK, J.** *The brain and fatigue: New opportunities for nutritional interventions?* Journal of Sports Sciences. 24(7): 773-782, 2006.
59. **MYERS, R.D.** *Serotonin and thermoregulation: old and new views.* J. Physiol. (Paris). 77: 505-513, 1981.
60. **NEWSHOLME, E.A., ACWORTH, I. and BLOMSTRAND, E.** *Amino-acids, brain neurotransmitters and a functional link between muscle and brain that is important in sustained exercise.* In. G. Benzi (Ed.), *Advances in Biochemistry*, John Libbey Eurotext Ltd, London, pages 127-133, 1987.
61. **NEWSHOLME, E.A., BLOMSTRAND, E, EKBLUM, B.** *Physical and mental fatigue: Metabolic mechanisms and importance of plasma amino acids.* British Medical Bulletin. 48(3): 477-495, 1992.
62. **PAULINELLI-JUNIOR, R.T.** *Suplementação com aminoácidos de cadeia ramificada (AACR): efeitos sobre o desempenho físico no calor em seres humanos.* Dissertação de mestrado, Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional da UFMG, Belo Horizonte, 2007.
63. **PIRES,W., WANNER, S.P., LA GUARDIA, R.B., RODRIGUES, L.O.C., SILVEIRA, S.A., COIMBRA,C.C., MARUBAYASHI, U. and LIMA, N.R.V.** *Intracerebroventricular Physostigmine enhances blood pressure and heat loss in running rats.* Journal of Physiology and Pharmacology. 58(1): 3-17, 2007.
64. **PITSILADIS, Y.P., STRACHAN, A.T., DAVIDSON, I. and MAUGHAN, R.J.** *Hyperprolactinaemia during prolonged exercise in the heat: evidence for a centrally mediated component of fatigue in trained cyclists.* Experimental Physiology. 87.2: 215-226, 2002.
65. **RAMAN, E.R., ROBERTS, M.F. and VANHUYSE, V.J.** *Body temperature control of rat tail blood flow.* American Journal of Physiology: Regulatory Integrative Comp. Physiol. 245: R426-432, 1983.
66. **RODRIGUES, L.O.C. e SILAMI-GARCIA, E.** *Temas atuais III em Educação Física e Esportes*, capítulo Fadiga: falha ou mecanismo de proteção? Páginas 29-48. Editora Health, Belo Horizonte, 1998.
67. **RODRIGUES, L.O.C., OLIVEIRA,A., LIMA, N.R.V. and MACHADO-MOREIRA, C.A.** *Heat storage rate and acute fatigue in rats.* Brazilian Journal of Medical and Biological Research. 36: 131-135, 2003.
68. **RODRIGUES, L.O.C., SILAMI-GARCIA, E. and SOARES, D.D.** *Novos conceitos em treinamento esportivo*, capítulo Fisiologia da Termorregulação: conceitos básicos, pág. 7-25. Publicações INDESP, Belo Horizonte, 1999.

69. **SANTOS, G.L., LEITE, J.V.P. and COIMBRA, C.C.** *Metabolic adjustment during adaptation to high ambient temperature in preoptic-lesioned rats.* Braz. J. Med. Biol. Res. 24: 1169-1172, 1991.
70. **SCHAECHTER, J.D. and WURTMAN, R.J.** *Tryptophan availability modulates serotonin release from rat hypothalamic slices.* Journal of Neurochemistry. 53: 1925-1933, 1989.
71. **SCHWARTZ, P.J, WEHR, T.A., ROSENTHAL, N.E., BARTKO, J.J., OREN, D.A., LUETKE, C. and MURPHY, D.L.** *Serotonin and Thermoregulation: Physiologic and Pharmacologic Aspects of Control Revealed by Intravenous m-CPP in Normal Human Subjects.* Neuropsychopharmacology. 13(2): 105-115, 1995.
72. **SERRA, F., LE FEUVRE, R.A., SLATER, D., PALOU, A. and ROTHWELL, N.J.** *Thermogenic actions of tryptophan in the rat are mediated independently of 5-HT.* Brain Research. 578: 327-334, 1992.
73. **SHARMA, H.S., WESTMAN, J., NAVARRO, J.C., DEY, P.K. and NYBERG, F.** *Probable involvement of serotonin in the increased permeability of the blood-brain barrier by forced swimming. An experimental study using Evans blue and <sup>131</sup>I-sodium tracers in the rat.* Behavioural Brain Research. 72: 189-196, 1996.
74. **SHELLOCK, F.G. and RUBIN, S.A.** *Temperature regulation during treadmill exercise in the rat.* Journal Applied Physiology: Respirat. Environ. Exercise Physiol. 57(6): 1872-1877, 1984.
75. **SOARES, D.D., COIMBRA, C.C. and MARUBAYASHI, U.** *Tryptophan-induced central fatigue in exercising rats is related to serotonin content in preoptic area.* Neuroscience Letters. 415: 274-278, 2007.
76. **SOARES, D.D., LIMA, N.R.V., COIMBRA, C.C. and MARUBAYASHI, U.** *Evidence that tryptophan reduces mechanical efficiency and running performance in rats.* Pharmacology, Biochemistry and Behavior. 74: 357-362, 2003.
77. **SOARES, D.D., LIMA, N.R.V., COIMBRA, C.C. and MARUBAYASHI, U.** *Intracerebroventricular tryptophan increases heating and heat storage rate in exercising rats.* Pharmacology, Biochemistry and Behavior. 78: 255-261, 2004.
78. **STITT, J.T.** *Central regulation of body temperature.* In: Carl V. Gisolfi, David R Lamb & Ethan R Nadel, Perspective in Exercise Science and Sports Medicine, vol.6, Exercise, heat and thermoregulation. 1<sup>st</sup>ed. American College of Sports Medicine and Cooper Publishing Group, 1-48, 1993.
79. **STRÜDER, H.K. and WEICKER, H.** *Physiology and Pathophysiology of the Serotonergic System and its implications on mental and Physical performance.* Part I. Int J Sports Med. 22: 467-481, 2001.
80. **WALTERS, T.J., RYAN, K.L., TATE, L.M. and MASON, P.A.** *Exercise in the heat is limited by a critical internal temperature.* Journal Applied Physiology. 89: 799-806, 2000.

81. **WANNER, S.P., GUIMARAES, J.B., RODRIGUES, L.O.C., MARUBAYASHI, U., COIMBRA, C.C., LIMA, N.R.V.** *Muscarinic cholinceptors in the ventromedial hypothalamic nucleus facilitate tail heat loss during physical exercise.* Brain Research Bulletin, 73: 28-33, 2007.
82. **WATSON, P., SHIRREFFS, S.M. and MAUGHAN, R.J.** *The effect of acute branched-chain amino acid supplementation on prolonged exercise capacity in a warm environment.* European Journal of Applied Physiology. 93: 306-314, 2004.
83. **WEBB, P.** *The physiology of heat regulation.* American Journal of Physiology: Regulatory Integrative Comp. Physiol. 268: R838-R850, 1995.
84. **WEICKER, H. and STRÜDER, H.K.** *Influence of exercise on serotonergic neuromodulation in the brain.* Amino Acids. 20: 35-47, 2001.
85. **YAMADA, J., SUGIMOTO, Y., WAKITA, J. and HORISAKA, K.** *The involvement of serotonergic and dopaminergic systems in hypothermia induced in mice by intracerebroventricular injection of serotonin.* Jpn. J. Pharmacol. 145-148, 1988.