

JULIANA BOHNEN GUIMARÃES

**A FADIGA NO EXERCÍCIO FÍSICO É MODULADA PELA  
NEUROTRANSMISSÃO COLINÉRGICA NOS NÚCLEOS  
VENTROMEDIAIS HIPOTALÂMICOS, EM AMBIENTE FRIO**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
ESCOLA DE EDUCAÇÃO FÍSICA, FISIOTERAPIA E TERAPIA OCUPACIONAL  
PÓS-GRADUAÇÃO EM EDUCAÇÃO FÍSICA: TREINAMENTO ESPOTIVO

JULIANA BOHNEN GUIMARÃES

**A FADIGA NO EXERCÍCIO FÍSICO É MODULADA PELA  
NEUROTRANSMISSÃO COLINÉRGICA NOS NÚCLEOS  
VENTROMEDIAIS HIPOTALÂMICOS, EM AMBIENTE FRIO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Educação Física da Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Educação Física / Área de concentração: Treinamento Esportivo.

Orientador: Prof. Dr. Nilo Resende Viana Lima

Belo Horizonte

G963f Guimarães, Juliana Bohnen  
2007 A fadiga no exercício físico é modulada pela neurotransmissão colinérgica nos núcleos ventromediais hipotalâmicos, em ambiente frio. [manuscrito] / Juliana Bohnen Guimarães. – 2007.  
136 f., enc.:il.

Orientador: Prof. Dr. Nilo Resende Viana Lima

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional.  
Bibliografia: f. 101-114

1. Exercícios físicos – Aspectos fisiológicos – Teses. 2. Fadiga – Teses. 3. Receptores muscarínicos - Teses. 4. Receptores colinérgicos - Teses. 5. Rato – Teses. 6. Regulação da temperatura corporal – Teses. I. Lima, Nilo Resende Viana. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional. III. Título.

CDU: 612:796

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



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**  
**ESCOLA DE EDUCAÇÃO FÍSICA, FISIOTERAPIA E TERAPIA OCUPACIONAL**  
**PÓS-GRADUAÇÃO EM EDUCAÇÃO FÍSICA: TREINAMENTO ESPORTIVO**

Dissertação intitulada **“A FADIGA NO EXERCÍCIO FÍSICO É MODULADA PELA NEUROTRANSMISSÃO COLINÉRGICA NOS NÚCLEOS VENTROMEDIAIS HIPOTALÂMICOS, EM AMBIENTE FRIO”**, realizada pela mestrandia Juliana Bohnen Guimarães, foi aprovada, no dia 15 de junho de 2007, pela banca examinadora constituída pelos seguintes professores:

---

Dr. André Ricardo Massensini – ICB / UFMG

---

Dr. Luiz Osvaldo Carneiro Rodrigues – EEFFTO / UFMG

---

Dr. Nilo Resende Viana Lima – EEFFTO / UFMG

Belo Horizonte

2007

## **AGRADECIMENTOS**

À população brasileira que financiou meus estudos desde o ensino primário à pós-graduação. Concluir mais uma fase de minha vida acadêmica em uma instituição pública me faz sentir imensa satisfação. Espero poder contribuir futuramente com o crescimento do país em minha área de formação.

À Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional da UFMG, lugar que significou mais que minha segunda casa nos últimos 8 anos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de estudos. Foi um privilégio poder estudar com custeio financeiro em um país onde apenas ter condições para estudar já é um mérito.

A todos os professores da pós-graduação que contribuíram com minha formação acadêmica.

Ao professor Dr. Nilo Resende Viana Lima pelos seis anos de convivência que o transformou em mais que um orientador, uma pessoa fundamental as minhas decisões. Obrigada pelo acolhimento, pelo exemplo ético-científico, pelos ensinamentos, pelas cobranças, pela rigidez, pelas dúvidas..., tenho certeza que sou privilegiada por ter sido orientada da forma que fui. Aprendi bem mais que métodos científicos, que foram fundamentais para a realização deste trabalho, aprendi uma maneira diferente de ver a vida e o mundo. Obrigada pelo gosto em aprender.

Ao professor Dr. Luiz Oswaldo Carneiro Rodrigues que me mostrou que em cada pergunta, cada projeto que nasce, há um prazer único e mágico. Agradeço pelo encantamento demonstrado pelo brilho do olhar diante de uma nova dúvida.

A professora Dra. Danusa Dias Soares por ter sido fundamental no meu despertar para a carreira acadêmica já no 2º período do curso de Educação Física. Ainda agradeço pelo entusiasmo, pela amizade, pela disponibilidade constante.

Ao professor Dr. Emerson Silami-Garcia pela ajuda na construção física do laboratório de fisiologia do exercício e por ensinar-me que existem outras questões e aspectos que vão além da produção de conhecimento.

A professora Umeko Marubayashi pela delicadeza e cuidado com o ensinamento da fisiologia. Ainda pela disposição nas discussões deste trabalho e pela convivência.

Ao professor Dr. Cândido Celso Coimbra que abriu as portas do Laboratório de Endocrinologia e Metabolismo do ICB, colaborando de maneira fundamental no desenvolvimento deste trabalho. Ainda, por me acolher em seu grupo de pesquisa, por sua colaboração nas discussões e pelo incentivo à produção científica.

À “Claudinha”, secretária da pós-graduação, pela competência e disponibilidade. Agradeço também pela convivência agradável.

À Maria Aparecida Vasconcelos Faria (Cida), técnica do Laboratório de Fisiologia do Exercício, pela preocupação com a organização e estruturação das pesquisas. Além do carinho diário e boa convivência.

Ao André Pimenta de Faria e à Solange, ambos do Laboratório de Endocrinologia e Metabolismo do ICB, pela assistência e disponibilidade no ensino de algumas técnicas científicas utilizadas neste projeto.

À professora Dra. Maria das Graças Carvalho, do Departamento de Análises Clínicas na Faculdade de Farmácia pelo empréstimo do microscópio ótico.

Aos colegas do ICB pela disponibilidade e pela companhia nos encontros e festas.

Aos companheiros de laboratório: Roberta Borges La Guardia (Bebé), Washington Pires e Milene Malheiros Lima por compartilharem o desejo de aprender, pela amizade, pela ajuda neste trabalho.

Aline Regina Gomes, Alison Eduardo Pereira Silva, Cristiano Lino Monteiro de Barros, Flávio de Castro Magalhães, Francisco Teixeira Coelho, Michele Macedo

Moraes, Kenya Paula Moreira Oliveira, Leonardo Coelho Gomes, Lucas de Ávila Mortimer, Luciana Madeira, Michele Atala, João Batista, Reinaldo Telles Paulinelli Jr., Renata Lana, Roberta Maria Miranda, Thiago Teixeira, pela amizade e convivência e pelas discussões científicas.

As minhas amigas de laboratório Letícia Maria de Souza Cordeiro e Ivana Alice Fonseca por estarem sempre comigo e por acreditarem que podemos mais.

Ao amigo Samuel Penna Wanner (Samu) que compartilhou comigo sua formação acadêmica de maneira tão especial. Agradeço pelo carinho, pela amizade, pelo incentivo, pelo exemplo de pessoa e aluno-pesquisador.

Obrigada aos meus amigos em especial Luciana, Marcos, Josie, Gabriela e Jefferson por saberem que a amizade é um bem-maior e que supera todas as ausências e frustrações.

Obrigada aos meus familiares em especial à tia Sandra e a tia Marilene que sempre me incentivaram em todos os aspectos.

Obrigada ao Luiz Alexandre Medrado de Barcellos (Nem) que superou “tudo” e hoje me faz feliz. Obrigada pela compreensão, companheirismo, respeito, amizade e amor. Amo-te!

Obrigada a minha irmã, Débora Bohnen Guimarães pela presença e incentivo constantes. Obrigada por me ensinar a superar o dia-a-dia e a ter alegria em viver.

Obrigada a minha avó Frida Bohnen Ribeiro pelo amor diário, pela perseverança, pela luta.

Aos meus pais, Hildeber Baeta Guimarães e Elizabeth Bohnen Guimarães que não pouparam esforços para fazer de mim uma pessoa melhor. Por abdicarem tantas vezes dos seus sonhos para fazer dos meus realidade. Obrigada pela luta, pelo amor, pelo carinho, pela vida.



Aos animais sacrificados nesse estudo  
e aos meus colegas de profissão.

## Sumário

<b>LISTA DE ABREVIACÕES.....</b>	<b>IV</b>
<b>LISTA DE ANEXOS.....</b>	<b>V</b>
<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>VI</b>
<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	<b>VII</b>
<b>LISTA DE GRÁFICOS.....</b>	<b>VIII</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>X</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>XII</b>
<b>1- HISTÓRICO DA PESQUISA.....</b>	<b>01</b>
<b>2-INTRODUÇÃO</b>	
<b>2.1- Exercício físico, homeostase e fadiga.....</b>	<b>04</b>
<b>2.2- Regulação da temperatura corporal e exercício físico.....</b>	<b>05</b>
<b>2.3- Participação das vias colinérgicas centrais na manutenção da temperatura corporal e da homeostase. ....</b>	<b>11</b>
<b>2.4- Participação das sinapses colinérgicas dos núcleos ventromediais hipotalâmicos na homeostase .....</b>	<b>16</b>
<b>3- MATERIAIS E MÉTODOS</b>	
<b>3.1- Cuidados Éticos.....</b>	<b>24</b>
<b>3.2- Animais.....</b>	<b>24</b>
<b>3.3- Seleção dos animais.....</b>	<b>24</b>
<b>3.4- Implante de cânulas crônicas nos núcleos ventromediais do hipotálamo.....</b>	<b>24</b>
<b>3.5- Adaptação ao exercício na esteira rolante.....</b>	<b>25</b>
<b>3.6- Implante do sensor para registro da temperatura interna .....</b>	<b>26</b>

<b>3.7- Injeção nos núcleos ventromediais hipotalâmicos.....</b>	<b>26</b>
<b>3.8- Variáveis medidas</b>	
3.8.1- <u>Temperatura interna.....</u>	27
3.8.2- <u>Temperatura da pele da cauda.....</u>	27
3.8.3- <u>Tempo total de exercício.....</u>	28
<b>3.9- Variáveis de controle</b>	
3.9.1- <u>Peso dos animais.....</u>	28
3.9.2- <u>Temperatura ambiente.....</u>	28
3.9.3- <u>Temperatura no interior da esteira.....</u>	29
<b>3.10- Variáveis calculadas</b>	
3.10.1- <u>Variação de calor e Taxa de variação de calor.....</u>	29
3.10.2- <u>Índice de dissipação de calor.....</u>	30
3.10.3- <u>Trabalho realizado.....</u>	30
<b>3.11 - Delineamento experimental 1.....</b>	<b>31</b>
<b>3.12- Delineamento experimental 2.....</b>	<b>32</b>
<b>3.13- Sacrifício e perfusão dos animais.....</b>	<b>35</b>
<b>3.14- Verificação da posição das cânulas centrais.....</b>	<b>35</b>
<b>3.15- Análise estatística.....</b>	<b>36</b>
<b>4- RESULTADOS.....</b>	<b>37</b>
<b>4.1- Delineamento experimental 1.....</b>	<b>38</b>
4.1.1- <u>Tempo total de exercício.....</u>	38
4.1.2- <u>Temperatura interna, taxa de variação da temperatura interna e             taxa de variação de calor.....</u>	39
4.1.3- <u>Temperatura da cauda e índice de dissipação de calor.....</u>	41
4.1.4- <u>Trabalho realizado.....</u>	43

<b>4.2- Delineamento experimental 2</b> .....	45
<b>4.2.1- Localização das cânulas crônicas centrais</b> .....	45
<b>4.2.2- Situação: Repouso</b> .....	48
<b>4.2.3- Situação: Exercício físico</b> .....	54
<b>4.2.4- Situação: Pós-exercício</b> .....	69
<b>4.3- Ambiente 23°C e 50%URA</b> .....	74
<b>4.4- Variáveis de controle dos experimentos a 5°C, 12°C e 15°C</b> .....	75
<b>5- DISCUSSÃO</b>	
<b>5.1- Delineamento experimental 1</b> .....	78
<b>5.2- Delineamento experimental 2</b> .....	84
<b>5.2.1- Situação: Repouso</b> .....	84
<b>5.2.2- Situação: Exercício físico</b> .....	87
<b>5.2.3- Situação: Pós-exercício</b> .....	95
<b>5.2.4- Modelo integrado de estimulação simpática via os Núcleos         Ventromediais do Hipotálamo</b> .....	97
<b>6- CONCLUSÃO</b> .....	99
<b>7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	101
<b>8- ANEXOS</b> .....	115

## LISTA DE ABREVIACÕES

- 5-HT: neurotransmissor serotonina.
- GABA: ácido  $\gamma$ -aminobutírico.
- i.p: intraperitoneal.
- KA: kainato.
- LH: hipotálamo lateral.
- MET: equivalente metabólico.
- MUI: multiunidades.
- P.E.: polietileno.
- PO/AH: área preótica / hipotálamo anterior.
- PPN: núcleos segmentais pedunculopontíneos.
- U.R.A: umidade relativa do ar
- VMH: núcleos ventromediais hipotalâmicos.
- $VO_{2max}$ : capacidade aeróbica máxima.
- ZI-STN: núcleos subtalâmicos.

## **LISTA DE ANEXOS**

- 1- Carta de aprovação do Protocolo 098/06 do Comitê de Ética em Experimentação Animal.
- 2- Gráficos do tempo total de exercício dos animais salina e metilatropina em que as cânulas não estavam posicionadas nos VMH.
- 3- CD com dados primários dos delineamentos experimentais 1 e 2.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Protocolo de adaptação ao exercício físico em esteira rolante.....	28
Figura 2: Representação esquemática do delineamento experimental 1.....	34
Figura 3: Representação esquemática do delineamento experimental 2.....	36
Figura 4: Foto de lâmina com corte do tecido cerebral, após coloração com cresil violeta.....	47
Figura 5: Esquema de localização das cânulas crônicas nos experimentos realizados a 5°C e 50%URA.....	48
Figura 6: Esquema de localização das cânulas crônicas nos experimentos realizados a 12°C e 50%URA.....	48
Figura 7: Esquema de localização das cânulas crônicas nos experimentos realizados a 15°C e 50%URA.....	49

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Tempo total de exercício de ratos intactos a 8°C, 12°C e 15°C.....	38
Gráfico 2.1: Temperatura interna de ratos intactos durante o exercício até a fadiga a 8°C, 12°C e 15°C.....	39
Gráfico 2.2: Taxa de variação de temperatura interna a 8°C, 12°C e 15°C.....	40
Gráfico 2.3: Taxa de variação de calor.....	41
Gráfico 3.1: Temperatura da pele da cauda a 8°C, 12°C e 15°C.....	42
Gráfico 3.2: Índice de dissipação de calor a 8°C, 12°C e 15°C.....	43
Gráfico 4.1: Trabalho realizado a 8°C, 12°C e 15°C.....	44
Gráfico 5.1: Temperatura interna (A) e variação da temperatura interna (B) durante 1 hora de repouso a 5°C, 12°C e 15°C.....	49
Gráfico 5.2: Temperatura interna dos animais salina e metilatropina, a 5°C (A), 12°C (B) e 15°C (C).....	50
Gráfico 6.1: Temperatura da pele da cauda dos ratos salina, a 5°C, 12°C e 15°C.....	51
Gráfico 6.2: Temperatura da pele da cauda dos ratos salina e metilatropina, a 5°C (A), 12°C (B) e a 15°C (C).....	53
Gráfico 7.1: Tempo total de exercício dos ratos salina e metilatropina a 5°C e 50%URA.....	54
Gráfico 7.2: Tempo total de exercício dos ratos salina e metilatropina a 12°C e 50%URA.....	55
Gráfico 7.3: Tempo total de exercício dos ratos salina e metilatropina a 15°C e 50%URA.....	55
Gráfico 7.4: Tempo total de exercício dos ratos que receberam injeção salina ou metilatropina fora dos VMH a 12°C e a 15°C.....	56
Gráfico 8.1: Temperatura interna dos ratos salina e metilatropina durante o exercício a 5°C e 50%URA.....	58
Gráfico 8.2: Temperatura interna dos ratos salina e metilatropina durante o exercício a 12°C e 50%URA.....	59
Gráfico 8.3: Temperatura interna dos ratos salina e metilatropina durante o exercício a 15°C e 50%URA.....	59
Gráfico 9.1: Temperatura da pele da cauda dos ratos salina e metilatropina durante o exercício a 5°C e 50%URA.....	60



Gráfico 9.2: Temperatura da pele da cauda dos ratos salina e metilatropina durante o exercício a 12°C e 50%URA.....	61
Gráfico 9.3: Temperatura da pele da cauda dos ratos salina e metilatropina durante o exercício a 15°C e 50%URA.....	61
Gráfico 10.1: Variação de calor dos ratos salina e metilatropina durante o exercício a 5°C (A), 12°C (B) e a 15°C (C).....	63
Gráfico 10.2: Taxa de variação de calor dos ratos salina e metilatropina durante o exercício a 5°C (A), 12°C (B) e a 15°C (C).....	65
Gráfico 10.3: Correlação entre a taxa de variação de calor e a temperatura ambiente nos animais salina e metilatropina.....	66
Gráfico 11.1: Índice de dissipação de calor dos animais salina e metilatropina durante o exercício a 5°C (A), 12°C (B) e a 15°C (C).....	68
Gráfico 11.2: Correlação entre o índice de dissipação de calor e a temperatura ambiente nos animais salina e metilatropina.....	69
Gráfico 12.1: Temperatura interna após o exercício dos animais salina e metilatropina a 5°C (A), 12°C (B) e a 15°C (C).....	70
Gráfico 13.1: Temperatura da pele da cauda após o exercício dos animais salina e metilatropina a 5°C (A), 12°C (B) e a 15°C (C).....	73
Gráfico 14.1: Temperatura interna durante o repouso a 23°C e 50%URA.....	74
Gráfico 14.2: Temperatura da pele da cauda durante o repouso a 23°C e 50%URA.....	75
Gráfico 15.1: Correlação entre a variação da temperatura interna e a temperatura ambiente.....	81
Gráfico 15.2: Correlação entre a taxa de variação de calor e a temperatura ambiente.....	81

## **RESUMO**

O bloqueio colinérgico dos núcleos ventromedias do hipotálamo (VMH) reduz a dissipação de calor durante o exercício físico, levando a uma maior taxa de acúmulo de calor, antecipando a fadiga em 37%. Embora tenha sido verificada a participação das sinapses colinérgicas dos VMH sobre a termorregulação durante o exercício até a fadiga, não foi demonstrado o controle desse núcleo em temperatura ambiente em que a produção e a dissipação de calor não são diferentes. Dessa forma, em condição controle não haveria alterações na taxa de variação de calor e estimulação de neurônios sensíveis a temperatura. A fadiga, assim, seria determinada por outros fatores senão térmicos. Além disso, não se sabe se a atividade termogênica dos VMH é dependente da temperatura ambiente e do aumento da taxa metabólica induzido pelo exercício. Assim, o objetivo do estudo é definir uma temperatura ambiente na qual a temperatura interna não é alterada durante o exercício físico até a fadiga e ainda, verificar o efeito do exercício físico e da temperatura ambiente sobre a atividade termogênica dos núcleos ventromediais do hipotálamo.

Foram utilizados ratos adultos da linhagem Wistar pesando entre 250 e 350 gramas. O estudo foi dividido em dois delineamentos experimentais. No primeiro delineamento experimental, os ratos intactos foram submetidos a corrida em esteira rolante a 20m/min e 5% de inclinação até a fadiga em ambiente de 8°C, 12°C e 15°C e URA de 50%. A temperatura interna, a temperatura da pele da cauda e o tempo total de exercício foram medidos. A temperatura interna dos animais intactos reduziu durante a corrida em ambiente de 8°C e aumentou a 15°C. Em ambiente de 12°C a temperatura interna dos ratos não modificou do início do exercício físico até o momento da fadiga. A temperatura da pele da cauda dos animais reduziu a partir do 2º minuto de exercício nas temperaturas ambientes.

No delineamento experimental 2, os animais receberam implante de cânulas crônicas bilaterais nos VMH. Os ratos foram submetidos a duas condições experimentais separadas por um intervalo de pelo menos dois dias. Os ratos receberam injeção de 0,2µL de solução salina (0,15 M) ou metilatropina ( $2,5 \times 10^{-2}$  M) nos VMH antes de iniciarem a situação de repouso ou exercício físico. As temperaturas interna e da pele da cauda e o tempo total de exercício foram medidos. Esse protocolo foi repetido em temperaturas ambientes diferentes, a 5°C, 12°C e 15°C e sempre com umidade relativa do ar de 50%. O bloqueio colinérgico nos VMH

reduziu o tempo de exercício físico nas três temperaturas ambientes. A temperatura interna reduziu a 5°C, aumentou a 15°C e não apresentou alterações a 12°C durante o exercício. A injeção de metilatropina nos VMH não modificou a temperatura interna em comparação ao grupo salina. A temperatura da pele da cauda dos ratos reduziu no grupo salina e no metilatropina nas três temperaturas ambientes, durante o exercício físico. Não houve diferença entre o grupo salina e metilatropina nas três temperaturas ambientes.

Diante desses dados, concluímos que a temperatura interna dos animais não é alterada durante o exercício físico a 20 m/min, 5% de inclinação até a fadiga sob temperatura ambiente de 12°C. E ainda que os receptores colinérgicos muscarínicos dos núcleos ventromediais hipotalâmicos modulam o tempo de exercício até a fadiga independente da temperatura ambiente na qual a atividade é realizada.

**Palavras-chaves:** exercício, receptores muscarínicos, colinérgico, ratos, termorregulação, fadiga.

## **ABSTRACT**

Cholinergic blockade in the ventromedial hypothalamic nucleus (VMH) reduces tail heat loss and induces a higher increase in the heat storage rate during physical exercise, anticipating the onset of fatigue in 37%. Although the evidences indicating the involvement of VMH cholinergic receptors on thermoregulation during the exercise until fatigue, the control of these nucleus in an ambient condition which the heat production is not different from the heat dissipation to the environment has not been described. In these conditions, the heat variation rate and the activation of temperature sensitive neurons would not be altered in control group and, thus, the fatigue would be related to factors other than the thermoregulatory adjustments. Furthermore, it is unclear if the VMH thermogenic activity depends on ambient temperature and exercise-induced increase in metabolic rate. Therefore, the aim of the study was to determine an ambient temperature where the internal body temperature is not altered during the physical exercise until fatigue and to verify the effect of physical exercise and ambient temperature on thermogenic activity of VMH. Adult male Wistar rats weighting 250-350 g were used. The study was divided in two experimental protocols. During the first experimental protocol, intact rats were submitted to treadmill running (20 m/min and 5% inclination) until fatigue at ambient temperatures of 8°C, 12°C and 15°C and with relative humidity controlled at 50%. Internal body temperature reduced during the exercise at 8°C and increased at 15°C. During the exposure to 12°C, internal body temperature was not modified from the beginning of the exercise until the fatigue point. Tail skin temperature decreased two minutes after the exercise had started and remained reduced until the onset of fatigue at the three ambient temperatures. During the second experimental protocol, animals were fixed to a stereotaxic apparatus and received a bilateral implant of cannulae in the VMH. The rats were submitted to two experimental conditions with an interval of at least two days between the trials. Rats received an injection of either 0,2 µL of 0,15 M saline solution or  $2,5 \times 10^{-2}$  M methylatropine in the VMH and, immediately after this procedure, the animals were submitted to exercise. Internal body temperature, tail skin temperature and time to fatigue were measured. This protocol was reproduced at different ambients temperatures of 5°C, 12°C and 15°C and with relative humidity always controlled at 50%. Cholinergic blockade in the VMH reduced the time to

fatigue at the three ambient temperatures. Internal body temperature reduced during the physical exercise at 5°C increased under 15°C and was not modified at 12°C. Methyldropine injection in the VMH failed to change internal body temperature compared to saline group. Tail skin temperature reduced during the exercise in both groups in all environmental conditions. No differences were observed in tail skin temperature between saline and methyldropine groups at the three ambient temperatures.

Taking the above data into account, we concluded that exercising running rats at 12°C represents an experimental protocol where the internal body temperature does not alter throughout the exercise until the onset of fatigue. Furthermore, VMH muscarinic cholinergic receptors determine the time to fatigue regardless of the ambient temperature in which the physical activity is carried out.

**Key-words:** exercise, fatigue, methyldropine, muscarinic cholinergic receptors, rats, thermoregulation.

## **1- HISTÓRICO DA PESQUISA**

MAKINEN et al (1996) estudando a termorregulação em diferentes temperaturas ambientes verificaram que os ratos que correram em intensidade de exercício submáxima, 20m/min, em temperatura ambiente 0°C, durante 30 minutos, não apresentaram variação na temperatura corporal interna, sendo todo calor gerado pelo exercício dissipado para o ambiente ( $\text{cal}\cdot\text{min}^{-1} = 0$ ). Entretanto, esse protocolo teve duração apenas de 30 minutos de exercício, impossibilitando o estudo da fadiga induzida pela atividade física.

WANNER et al. (2003) utilizaram o mesmo protocolo proposto por MAKINEN et al. (1996) com duração até a fadiga. Foi observada uma correlação negativa entre o tempo total de exercício e a temperatura corporal interna dos animais. Os animais terminaram o exercício em estado hipotérmico.

A partir desses dados, foi escolhida para este estudo a temperatura ambiente, inicialmente, de 5° C e 50% de URA para verificar a existência de uma temperatura ambiente na qual a temperatura interna dos animais não fosse alterada do início ao final do exercício físico e assim, possibilitar a padronização de um método experimental.

De acordo com os dados apresentados no presente estudo, em temperatura ambiente de 5° C, foi verificada uma redução na temperatura interna dos animais até o momento da fadiga.

No estudo de RODRIGUES et al. (2003) realizado no Laboratório de Fisiologia do Exercício foi observado que a temperatura ambiente de 18° C induziu fadiga associada ao aumento da temperatura corporal interna e que quanto maior a taxa de variação de calor, menor era o tempo total de exercício. Dessa forma, havia uma faixa de temperatura ambiente, de 5° C a 18° C, ainda não estudada. Assim, outras

temperaturas ambientes contidas nessa faixa deveriam ser abordadas na tentativa de encontrar o ambiente no qual não haveria alteração na temperatura interna dos animais do início do exercício físico até a fadiga. Foram escolhidas aleatoriamente, três temperaturas ambientes para o início do estudo, 8° C, 12° C e 15° C.

De acordo com os dados apresentados nessa dissertação, em temperatura ambiente de 12° C, a temperatura interna corporal não alterou do início ao final do exercício físico, possibilitando a padronização de um método em que as variáveis termorregulatórias não são determinantes da fadiga física.

A seqüência de estudos com o bloqueio dos receptores muscarínicos dos núcleos ventromediais do hipotálamo foi realizada a partir da padronização do método em temperatura ambiente de 12° C.



## **2- INTRODUÇÃO**

## 2.1- Exercício físico, homeostase e fadiga.

Durante a atividade física ocorrem modificações nos sistemas fisiológicos em decorrência do aumento da necessidade energética aos músculos, podendo alterar o equilíbrio orgânico (KOPIN, 1991). Em resposta a esse desequilíbrio é desencadeado um mecanismo denominado fadiga.

Tradicionalmente, a fadiga corresponde à incapacidade de manutenção de uma atividade em uma determinada força ou potência, devido a uma “falha” em algum dos sistemas fisiológicos, desde o surgimento do estímulo nervoso no cérebro até a contração muscular (MCLAREN et al, 1989).

SOARES et al. (2003) estudaram a fadiga causada pelo aumento na atividade da serotonina (5-HT) durante o exercício prolongado. O aumento da atividade serotoninérgica pode induzir a fadiga por aumento da letargia e diminuição do “drive” / motivação central (NEWSHOLME et al, 1992). Os resultados demonstraram uma redução no tempo total de exercício dos ratos tratados com triptofano, um precursor da serotonina, no ventrículo cerebral lateral. Essa redução do desempenho foi acompanhada de uma redução da eficiência mecânica e conseqüentemente um aumento no consumo de oxigênio. Também foi observado maior acúmulo de calor, embora no momento da fadiga, as temperaturas intraperitoneais dos ratos tratados com triptofano não tenham sido diferentes dos animais controles (SOARES et al., 2004). É possível que o maior acúmulo de calor corporal tenha sido causado, além de um maior gasto energético durante o exercício, por uma redução da quantidade de calor dissipado pelo animal.

O modelo de “falha” parece satisfatório para explicar casos de lesões ou patologias específicas, entretanto, em condições fisiológicas, existem evidências de que a fadiga ocorre antes que qualquer sistema atinja seu limite em determinada intensidade do exercício. Além disso, esse modelo de fadiga compreendido como “falha” não considera as condições ambientais e a temperatura corporal, não explicando de maneira satisfatória alguns resultados de estudos (SOARES, 1993; LEE e HAYMES, 1995; GALLOWAY e MAUGHAN, 1997; GUIMARÃES e SILAMI-GARCIA, 1993).

Diante das deficiências encontradas nesse modelo de fadiga, RODRIGUES e SILAMI-GARCIA (1998) propuseram um novo conceito de fadiga:

*“Fadiga é um mecanismo de defesa, complexo, multifatorial e interativo que integra múltiplos estímulos sensoriais, onde fatores estariam associados à intensidade e à duração do exercício, em função do ambiente, para evitar qualquer falha na homeostase”.*

Embora integrados, os diferentes sistemas fisiológicos envolvidos podem responder de formas diferentes de acordo com a intensidade relativa (% do  $VO_{2max}$ ). O modelo de limites integrados propõe o entendimento da fadiga como um mecanismo de defesa que se adapta às diversas condições ambientais, interrompendo o esforço antes de romper o limite de qualquer dos sistemas fisiológicos envolvidos.

Usualmente, a fadiga é diferenciada da exaustão por apresentar voluntariedade e acreditar-se que esse ponto coincide com a capacidade máxima metabólica e cardiovascular (KAYSER, 2003). Para a exaustão, em estudos que utilizam o modelo animal, são utilizados protocolos de exercício mais vigorosos (HUBBARD et al., 1976; FRUTH et al., 1993). A exaustão é definida como o momento em que o animal, ao ser colocado em decúbito dorsal, não consegue retornar à sua posição normal após o exercício físico. Isso pode induzir os animais a aumentarem o tempo total de exercício e a atingirem condições graves, seja por hipertermia ou hipotermia, o que pode ocasionar em morte. HUBBARD et al. (1976) observaram temperaturas retais variando de 38°C a 43,5°C no momento da exaustão. Quanto maior foi essa temperatura, maior o percentual de mortalidade dos ratos, sendo que 66,7% dos ratos apresentaram mortalidade em uma faixa térmica corporal de 41,1-42,5°C.

## **2.2- Regulação da temperatura corporal e exercício físico**

Alguns animais, como os mamíferos, conseguem manter a temperatura corporal dentro de limites estreitos (aproximadamente 1°C de variação) independente de flutuações na temperatura ambiental, através do equilíbrio entre produção e dissipação de calor. A esses animais é atribuído o termo homeotérmico (REILLY e CABLE, 1996).

GORDON (1993) destaca que a termorregulação nos homeotérmicos é controlada por um sistema que possui quatro componentes principais: de feedback ou retroalimentação (receptores térmicos), um comparador (neurônios integrativos e de controle do sistema nervoso central), um controlador (mecanismos efetores responsáveis pela produção, conservação e dissipação de calor) e um sistema controlado (temperatura interna e da pele).

O hipotálamo contém o centro integrador das respostas termoeletoras que regula a temperatura corporal interna no ponto de ajuste de aproximadamente 37°C para seres humanos, em condições normais de repouso. O hipotálamo é sensível a variações na temperatura corporal, estando permanentemente comparando-as com uma referência (REILLY e CABLE, 1996). Desta forma, a percepção de alterações significativas na temperatura corporal em relação ao ponto de ajuste, desencadeia respostas de correção.

Um dos primeiros estudos a relatar a participação do hipotálamo na regulação da temperatura interna foi realizado por MAGOUN et al. (1938), o qual realizou o aquecimento local do cérebro de gatos, com uma corrente de baixa voltagem e alta frequência. Foi demonstrada uma região reativa (incluindo a parte dorsal do hipotálamo) a qual responde ao aumento da temperatura por meio de aumento da taxa respiratória e, em alguns experimentos, pelo aparecimento de suor nas patas.

Neurônios sensíveis à temperatura do sangue que perfunde regiões hipotalâmicas, além de termorreceptores localizados na pele, nas vísceras e na medula espinhal conduzem impulsos nervosos aferentes ao hipotálamo para a regulação da temperatura corporal (CANTERAS, 1999; RODRIGUES et al., 1999). As respostas desencadeadas pelo sistema nervoso autônomo variam de acordo com a temperatura do ambiente no qual o animal se encontra, na tentativa de manter uma situação de equilíbrio dinâmico entre produção e dissipação de calor.

ISHIWATA et al. (2001) perfundiram tetrodoxina, um bloqueador dos canais de sódio e do potencial de ação, na área preótica/hipotálamo anterior e nos núcleos medianos da rafe, utilizando a técnica de microdiálise em diferentes temperaturas ambientais (5°C, 23°C e 35°C). Os resultados mostraram respostas diferentes à tetrodoxina na área preótica/hipotálamo anterior e nos núcleos medianos da rafe em idênticas condições de temperatura. Nos núcleos medianos da rafe, a perfusão de tetrodoxina induziu hipotermia em temperatura ambiente de 23°C e reduziu a temperatura

corporal durante exposição ao frio. Porém, na área preótica/hipotálamo anterior, a solução de tetrodoxina induziu hipertermia a 23°C e reduziu a temperatura corporal durante a exposição ao calor. Esses resultados indicam que a área preótica regula a dissipação de calor ou inibe os locais de produção de calor, em repouso. Sugere-se ainda que a produção de calor seja regulada por estruturas centrais que recebem inervação serotoninérgica a partir dos núcleos medianos da rafe.

Na tentativa de esclarecer os mecanismos envolvidos no aumento da temperatura corporal em resposta a tetrodoxina, ISHIWATA et al. (2002) mediram a temperatura da cauda como indicador de dissipação de calor e ainda a frequência cardíaca e a locomoção, como índice de produção de calor sob três temperaturas ambientes. A frequência cardíaca e a atividade locomotora dos ratos aumentaram em ambientes quentes, frios e termoneutros (35°C, 5°C e 23°C), enquanto a temperatura da cauda aumentou apenas na faixa termoneutra. Os resultados sugerem que o aumento na temperatura interna em resposta a tetrodoxina reflete a facilitação da produção de energia e que a área preótica/hipotálamo anterior tem uma possível participação na excitação e inibição do tônus vasomotor da cauda de ratos, modulando mecanismos de dissipação de calor.

Aparentemente, não existe uma única área anatômica reguladora dos sistemas de produção e dissipação de calor. O mais provável é que haja uma integração desses locais que estão envolvidos nas respostas que regulam a temperatura corporal, formando uma rede neural (MURAKAMI e AKIMORIMOTO, 1982).

Temperaturas ambientes inferiores ou superiores à faixa termoneutra provocam respostas fisiológicas específicas, visando à conservação ou dissipação de calor. O sistema termorregulatório consiste em vias de retroalimentação, tanto para regular a produção/conservação de calor quanto para a regulação da dissipação de calor (GORDON, 1993).

HAYMES e WELLS (1986) definem ambiente termoneutro aquele no qual a taxa metabólica de repouso está no seu limite inferior. Essa faixa, segundo CLARK e EDHOLM (1985) está entre 21°C e 24°C para seres humanos.

Segundo a literatura, a faixa termoneutra pode apresentar variações tanto inter quanto intra-espécies. ROMANOVSKY et al. (2002) determinaram a faixa

termoneutra para cinco diferentes linhagens de ratos, variando de 27,4° C a 32,5° C. Para os ratos Wistar, a faixa se restringiu entre 29,0° C e 30,5° C.

A temperatura do corpo é a resultante da produção de calor através do metabolismo e das trocas térmicas com o ambiente através da radiação, condução, convecção e evaporação (WEBB, 1995; GORDON, 1993; REILLY e CABLE, 1996).

Em casos de exposição a temperaturas abaixo da faixa termoneutra, mecanismos de produção/conservação de calor são enfaticamente estimulados. O calor é um produto do metabolismo celular derivado da oxidação de carboidratos, lípidos e proteínas. A taxa metabólica basal é definida como a produção de calor essencial às funções em condições de repouso (GISOLFI, LAMB e NADEL, 1993).

Convenientemente, a taxa metabólica é medida pelo consumo de oxigênio (VO<sub>2</sub>). Essa taxa pode elevar-se algumas vezes comparada aos valores basais, durante o tremor involuntário, “shivering”, chegando a aumentar em até 25 vezes (25 METs) durante o exercício físico (REILLY e CABLE, 1996). A produção de calor, em seres humanos, tem mostrado ser diretamente relacionada à intensidade do exercício (SHELLOCK e RUBIM, 1984). Porém, em animais, essa resposta é discutida na literatura. WILSON et al. (1978) mostraram que os ratos atingiam um equilíbrio térmico durante o exercício, mas não observaram relação linear entre VO<sub>2</sub> e intensidade. Esses dados contrastam com os resultados de HARRI et al. (1982).

A taxa metabólica também pode ser elevada por processos que não envolvam a contração do músculo esquelético, sendo o tecido adiposo marrom fundamental para a termogênese sem tremor. O tecido adiposo marrom, apesar de ser composto por células de gordura, distingue-se do tecido adiposo branco por ser amplamente vascularizado, possuir grande quantidade de mitocôndrias e densas inervações simpáticas, o que permite a elevação da taxa metabólica pela produção de calor (GORDON, 1993). Estudos têm estabelecido que tanto a termogênese “não shivering” e a termogênese induzida pela dieta são reguladas pelo sistema nervoso simpático via inervação direta noradrenérgica nas células do tecido adiposo marrom. Assim, o metabolismo do tecido adiposo marrom é controlado, primariamente, pela liberação da noradrenalina das terminações nervosas simpáticas.

Além da produção de calor por aumento da taxa metabólica, há um redirecionamento do fluxo sanguíneo para regiões centrais corporais, reduzindo a

dissipação do calor. O sangue é direcionado à periferia corporal pelas grandes artérias e retorna através das anastomoses pelas veias profundas, o que mantém o sangue aquecido, reduzindo a perda térmica. Esse mecanismo é denominado contracorrente (RODRIGUES et al., 1999).

A piloereção, em mamíferos, também constitui um dos mecanismos termorregulatórios. Os pêlos do corpo geram uma camada de insulação. Em humanos, recursos comportamentais como roupas, ambientes climatizados e outras tecnologias de proteção tentam aumentar essa camada de insulação (RODRIGUES et al., 1999). Em ratos, o mecanismo comportamental desenvolvido é a redução da superfície corporal, assumindo uma postura de “bola”, além de agruparem-se quando em coletivo (GORDON, 1993).

Em condições ambientais acima da faixa da termoneutralidade os mecanismos termorregulatórios são estimulados com objetivo de dissipação de calor. O redirecionamento do fluxo sanguíneo para as áreas periféricas corporais constitui um dos mecanismos efetores para a dissipação de calor. A vasodilatação periférica é representada nos seres humanos pela dilatação da vasculatura cutânea. Assim como a pele humana, a cauda do rato e a orelha do coelho são estruturas especializadas para a troca de energia com o meio ambiente, caracterizadas por uma alta razão entre superfície e volume, ausência de pêlos, uma densa rede de vasos sanguíneos e presença de anastomoses arteriovenosas (ROMANOVSKY et al., 2002).

Em pequenos mamíferos, como os roedores, a saliva é espalhada sobre os pêlos e outras superfícies corporais como outro mecanismo de dissipação de calor. A saliva é usualmente aplicada para expor superfícies vascularizadas como as patas, o escroto e a base da cauda (GORDON, 1993).

Todos esses mecanismos, tanto os de produção/conservação quanto os de dissipação de calor, estão em constante interação dinâmica apresentando maior destaque ou estimulação de um ou outro, dependendo da condição ambiental em que o organismo é exposto.

O estresse térmico pode antecipar a fadiga durante o exercício em uma determinada intensidade ( $\%VO_{2max}$ ). Estudos têm mostrado a redução do tempo total de exercício em ambientes quentes e a temperatura interna elevada tem sido considerada um

fator limitante do desempenho durante o exercício prolongado (GUIMARÃES e SILAMI-GARCIA, 1993; GALLOWAY e MAUGHAN, 1997; NIELSEN et al., 1997; FULLER et al., 1998; GONZÁLEZ-ALONSO et al., 1999, WALTERS et al., 2000; RODRIGUES et al., 2003).

FULLER et al. (1998) estudaram o efeito de diferentes ambientes nas respostas das temperaturas hipotalâmicas e peritoneal em ratos da linhagem Sprague-Dawley. Os animais correram a uma velocidade de 15m/min e inclinação de 10%, até a fadiga em diferentes temperaturas secas e mesma umidade relativa do ar (40%). Os resultados demonstraram que o tempo total de exercício foi menor no grupo sob condições quentes. No entanto, as temperaturas hipotalâmicas e peritoniais foram semelhantes entre os grupos no momento da fadiga. Esses dados sugerem uma temperatura limite na qual o exercício físico é interrompido.

Baseando-se nas conclusões de FULLER et al. (1998), WALTERS et al. (2000) estudaram as respostas termorregulatórias de ratos exercitando-se a 17m/min e 8% de inclinação, até a fadiga. Foram provocadas diferentes condições de temperatura hipotalâmica e retal pré-exercício por meio de um microondas. Foram utilizados três grupos de ratos submetidos a 41,5°C, 42,5°C e 43,5°C. Os resultados mostraram que os animais que realizaram exercício à temperatura de 41,5°C apresentaram maior tempo total de exercício comparado aos animais que exercitaram a 43,5°C. Além disso, observou-se que todos os grupos apresentaram a mesma temperatura retal e hipotalâmica ao final do exercício, concluindo a existência de uma correlação negativa entre tempo total de exercício e temperaturas centrais iniciais, além de uma temperatura interna limite para a fadiga.

RODRIGUES et al. (2003) observaram que o tempo total de exercício foi inversamente proporcional à intensidade do exercício e ao estresse térmico ambiental. Foram utilizados ratos Wistar submetidos a um exercício em esteira (21m/min e 24m/min e 0% de inclinação) em três diferentes ambientes (22°C, 28°C e 35°C). Observou-se que o tempo total de exercício diminuiu com o aumento da velocidade e da temperatura ambiente, sendo esses dois fatores independentes entre si. A taxa de acumulação de calor foi a variável que melhor correlacionou com o aparecimento da fadiga, sendo que a temperatura interna corporal final foi diferente nas situações estudadas. Estes resultados indicam a importância da taxa de acumulação de calor no desenvolvimento da fadiga.



A taxa de acumulação de calor é uma variável dinâmica que considera a produção de calor durante o exercício (proporcional à intensidade do exercício - %VO<sub>2max</sub>) e o grau de dificuldade de dissipação de calor para o ambiente (estresse térmico).

GONZÁLEZ-ALONSO et al. (1999) em estudos com humanos, verificaram que a fadiga em indivíduos treinados ocorreu em temperaturas limites (central e muscular), independentes da temperatura interna inicial ou da taxa de acumulação de calor (cal. min<sup>-1</sup>).

MATTHEW (1993) utilizou ratos da linhagem Sprague-Dawley para estudar os efeitos de diferentes temperaturas ambiente (10°C, 15°C, 26°C e 30°C e 50%URA) no exercício e na redução da temperatura corporal pela administração de fisostigmina, um agonista colinérgico. Os resultados sugerem que a temperatura corporal é limitante, reduzindo o tempo total de exercício à medida que a temperatura ambiente aumenta, resultando em maior taxa de acumulação de calor.

Procurando elucidar a associação do calor gerado pelo exercício, termorregulação e fadiga, MAKINEN et al. (1996) observaram o efeito da temperatura ambiente fria no custo energético e termorregulação em ratos Sprague-Dawley durante exercício. Os ratos foram submetidos a três intensidades submáximas (10 m/min, 15 m/min e 20m/min) em diferentes condições ambientais (22°C, 0°C, -10°C e -20°C) durante 30 minutos. Os resultados mostraram que à temperatura de 0°C houve uma substituição da produção de calor termorregulatória em repouso por termogênese do exercício. Além disso, os ratos que correram em intensidade de exercício submáxima, 20m/min, em temperatura ambiente 0°C, durante 30 minutos, não apresentaram variação na temperatura corporal interna, sendo todo calor gerado pelo exercício dissipado para o ambiente (cal.min<sup>-1</sup> = 0).

O estudo de WANNER (2003) com objetivo de padronizar um método experimental com a taxa de acumulação de calor igual a zero, utilizou o mesmo método de MAKINEN et al. (1996), porém, com duração da atividade física até a fadiga. Os resultados demonstraram que a taxa de acumulação de calor de ratos durante o exercício (20m/min e 0% de inclinação) até o aparecimento da fadiga em uma temperatura de 0°C foi diferente de zero. A taxa de acumulação de calor foi igual a zero até os 70 minutos de exercício. Após os 70 minutos de exercício, a produção metabólica de calor foi inferior à dissipação de calor para o ambiente frio, resultando em uma taxa de variação de calor negativa.

### **2.3- Participação das vias colinérgicas centrais na manutenção da temperatura corporal e da homeostase.**

A taxa de variação de calor seja negativa ou positiva, é o resultado da sobreposição do ajuste de perda de calor sobre a produção de calor, ou vice-versa. Existem evidências na literatura de que a taxa de variação de calor está associada à fadiga durante a atividade física (RODRIGUES et al., 2003). Dessa forma, considerando que a fadiga coincida ou possa ser antecipada por alterações na taxa de variação de calor, a ativação ou inibição de mecanismos centrais para perda ou conservação de calor poderiam aumentar o tempo total de exercício.

Dados fisiológicos têm demonstrado duas vias colinérgicas distintas originadas na área preótica anterior e região hipotalâmica transversa em direção caudal para a área posterior. Uma dessas vias, aparentemente participa dos mecanismos de produção de calor, enquanto a outra serve para os de dissipação de calor (MYERS e YACSH, 1969).

Estudos que utilizaram estimulação química do sistema nervoso central com agonistas, antagonistas colinérgicos e anticolinesterásicos verificaram o envolvimento das sinapses colinérgicas nas alterações de respostas termorregulatórias (BAIRD e LANG, 1973; RODRIGUES et al., 2004; LIMA, 2000).

De maneira geral, a injeção central de carbacol, neostigmina ou fisostigmina reduz a temperatura corporal de ratos (BAIRD e LANG, 1973; LIN et al., 1980; UNAL et al., 1998) e esse efeito é impedido pela administração prévia de bloqueadores dos receptores muscarínicos (BAIRD e LANG, 1973).

BAIRD e LANG (1973) realizaram injeção de agonista colinérgico, metacolina ou acetilcolina, no ventrículo cerebral lateral esquerdo de ratos e gatos conscientes. Os dados encontrados sugerem que há diferentes respostas sobre a termorregulação em diferentes espécies. Em ratos, a acetilcolina injetada no ventrículo cerebral produziu uma redução na temperatura corporal interna, resultado não encontrado em gatos. Essa resposta hipotérmica foi abolida pela pré-injeção de atropina, mas não pela pré-injeção de mecamilamina, sugerindo que os receptores muscarínicos participam da ativação de mecanismos para redução da temperatura induzida pela acetilcolina.

LIN et al. (1980) avaliaram os efeitos produzidos pela injeção de agonistas e antagonistas colinérgicos no ventrículo lateral cerebral sobre a termorregulação de ratos conscientes, durante o repouso, em temperaturas ambientes de 8°C ou 22°C. A administração intracerebroventricular de acetilcolina, pilocarpina, fisostigmina, atropina e hemicolina produziram uma hipotermia dependente da dose administrada, nas diferentes temperaturas ambientes. A hipotermia induzida pelos agonistas colinérgicos (acetilcolina, pilocarpina e fisostigmina) foi causada pela redução da produção metabólica de calor e pela vasodilatação cutânea da cauda e das patas do rato. Enquanto a hipotermia induzida pelos antagonistas colinérgicos foi causada apenas pela redução da produção metabólica de calor. Diante desses resultados, sugere-se que as drogas tenham efeito sobre interneurônios que medeiam às respostas de regulação à temperatura corporal interna.

O estudo de MATTHEW et al. (1992) verificou após a administração de fisostigmina, em ratos, uma redução no tempo total de exercício e o aumento da temperatura corporal interna, e conseqüentemente na taxa de acúmulo de calor. Discute-se que o aumento na temperatura interna encontrado seja um resultado de desequilíbrio entre dissipação e produção de calor gerada durante o exercício.

Em adição, a dissipação de calor reduzida em ratos tratados com fisostigmina pode possuir uma importante função na modulação do tempo total de exercício associado a um componente termorregulatório. Os resultados de MATTHEW et al. (1992) mostraram um menor trabalho em animais com temperatura corporal aumentada induzida pelo tratamento com fisostigmina. Além disso, foi demonstrado que essa redução no desempenho e aumento na temperatura corporal interna possui efeito dependente das concentrações de agentes colinérgicos administradas (MATTHEW et al., 1992).

Por outro lado, RODRIGUES et al. (2004) não encontraram diferenças entre a temperatura corporal interna de ratos em repouso pré-tratados com fisostigmina comparados aos animais do grupo salina. Os autores indicam que é possível que a resposta hipotérmica induzida pela fisostigmina em ratos, durante o repouso, tenha sido compensada por uma elevação na taxa metabólica. Outro ponto observado é que a dose administrada nesse estudo foi menor àquelas utilizadas em estudos que observaram resposta de hipotermia (LIN et al., 1980). Durante o exercício, o calor gerado pela atividade física é maior que aquele observado durante o repouso. Dessa

forma, os mecanismos para manutenção da temperatura corporal interna dentro de limites seguros, estão aumentados. De fato, o efeito central da fisostigmina promove aumento na atividade simpática para o coração, além de aumentar os efeitos hemodinâmicos e térmicos para perda de calor. Esses dados possuem relevância, uma vez que em situação de exercício, a dissipação de calor nos ratos não ocorre em maior parte por perdas evaporativas, e sim por aumento de fluxo sanguíneo e vasodilatação da cauda (RAMAN et al., 1983). Os resultados de RODRIGUES et al. (2004) demonstram o envolvimento de sinapses colinérgicas durante o exercício na termorregulação de ratos, uma vez que em exercício, o aumento da temperatura corporal interna é atenuado.

Comprovadamente, a área preótica/hipotálamo anterior (PO/AH) possui função como centro integrativo para vários estímulos termossensórios e termoefetores. GILBERT e BLATTEIS (1977) mediram o fluxo sanguíneo cutâneo, o consumo de oxigênio, a temperatura retal e a temperatura cutânea, além da atividade do tremor involuntário de ratos anestesiados durante 2 horas em temperatura ambiente de 5°C, 26°C e 33°C, após 2 semanas de secção seletiva bilateral hipotalâmica. Animais com junção da PO/AH seccionada 1,5 mm ou 3, 0 mm laterais a linha média craniana, bem como secções parassagitais, as quais separam conexões entre a PO/AH e o prosencéfalo médio, exibiram um maior fluxo sanguíneo a 26°C que os animais controles operados com cirurgia-sham. A 5°C, as secções parassagitais na PO/AH reduziram a vasoconstrição cutânea, mas não tiveram nenhum efeito sobre a atividade de tremor involuntário. Dessa forma, a temperatura retal não foi mantida. Nenhuma das secções induziu prejuízo termorregulatório em ambiente de 33°C. Esses resultados sugerem que diferentes áreas do hipotálamo podem, separadamente, controlar a vasoconstrição da pele induzida pelo frio, bem como a vasodilatação induzida pelo calor. Assim, parece que a integridade da PO/AH é indispensável para a vasoconstrição cutânea durante o frio, mas não é fundamental para a termogênese ou para a vasodilatação (GILBERT e BLATTEIS, 1977). Parece que o aumento na condutância vascular cutânea da cauda durante o calor e conseqüente aquecimento corporal ocorre somente devido a uma redução na atividade do nervo vasoconstritor (O'LEARY et al., 1985).

A exata localização das sinapses que compõem a rede neural envolvida na termorregulação, incluindo as sinapses colinérgicas, ainda não foi elucidada.

Entretanto, regiões hipotalâmicas com expressão de receptores muscarínicos, como a área preótica e núcleos paraventriculares são possíveis sítios de influência colinérgica na termorregulação durante o exercício. Tem sido estabelecido que a área preótica e o hipotálamo anterior são regiões integrativas para a manutenção da homeostase térmica e metabólica (COIMBRA e MIGLIORINI, 1988; FERREIRA et al., 1999).

Evidências na literatura têm demonstrado que a estimulação colinérgica central, além de participar da regulação da temperatura corporal, também participa da modulação metabólica e pressórica (MIGLIORINI et al., 1989; LI et al., 1997; LIMA et al., 1998; PIRES et al., 2007; PRÍMOLA-GOMES et al., 2004).

No estudo de LI et al. (1997) foi injetada neostigmina, um inibidor da acetilcolinesterase, no ventrículo lateral cerebral de ratos não anestesiados. As alterações na pressão arterial sanguínea foram correlacionadas às modificações na imunorreatividade de c-fos no hipotálamo e no prosencéfalo após a estimulação colinérgica. Foram encontradas imunorreatividade c-fos nos núcleos hipotalâmicos posteriores, núcleos paraventriculares e núcleos supraóticos do hipotálamo, além de núcleos premamilares, núcleos centrais da amígdala, septo lateral e área preótica medial. O pré-tratamento com metilatropina intracerebroventricular (0,5 µg), um antagonista de receptores muscarínicos, preveniu a resposta pressórica a neostigmina e reduziu a imunorreatividade c-fos comparado aos animais controles. Esses resultados indicam que a resposta pressórica induzida pela estimulação colinérgica central pode ser mediada pela ativação de receptores muscarínicos em regiões específicas do hipotálamo e do prosencéfalo.

PIRES et al. (2007) observaram o aumento da pressão arterial média dos ratos, três minutos após a injeção intracerebroventricular de fisostigmina. Esse aumento foi causado pela elevação da pressão arterial sistólica e diastólica e foi acompanhado por uma redução reflexa da frequência cardíaca. Houve também um aumento na temperatura de pele da cauda dos ratos do oitavo ao vigésimo quarto minuto após a administração da droga. É possível que o aumento da temperatura da cauda represente um aumento do fluxo sanguíneo em função da pressão arterial média aumentada e que o aumento da dissipação de calor seja uma consequência do ajuste cardiovascular (PIRES et al., 2007).

Além de alterações cardiovasculares, as sinapses colinérgicas participam da modulação do metabolismo e da termorregulação (VILBERT et al., 1984; IGUSHI et al., 1986; VISSING et al., 1989; BALKAN et al., 1991; NARITA et al., 1994; MONDA et al., 1997; RUFFIN et al., 1999).

Os estudos de IGUCHI et al. (1986) observaram o aumento da secreção de adrenalina da medula adrenal e glucagon do pâncreas, além de aumento na estimulação direta para o fígado, resultando em hiperglicemia em ratos alimentados anestesiados, após a injeção de neostigmina, um agonista colinérgico, no terceiro ventrículo cerebral. Quando injetada atropina no terceiro ventrículo, foi reduzida a secreção de adrenalina periférica e a hiperglicemia induzida pela neostigmina em ratos intactos. Além disso, a atropina inibiu a secreção de glucagon em ratos adrenodemedulados e a hiperglicemia induzida pela neostigmina. Esses dados sugerem que a secreção de adrenalina e glucagon induzidas pela neostigmina e a concentração de glicose hepática aumentada, estimulada por inervação direta para o fígado, são mediadas por receptores muscarínicos no aumento da atividade simpática, em animais alimentados durante o repouso.

LIMA et al. (1998) investigaram a função das sinapses colinérgicas na regulação metabólica durante o exercício. Foi administrada injeção de atropina ( $5 \times 10^{-7}$  mol) no ventrículo lateral cerebral de ratos normais e adrenodemedulados, submetidos ao exercício em esteira a 15m/min e 5% de inclinação até a fadiga. Os resultados verificaram uma redução no tempo total de exercício nos ratos com pré-tratamento de atropina. Além disso, a atropina intracerebroventricular interrompeu o controle da concentração plasmática de glicose por retro-alimentação, uma vez que a glicemia permaneceu elevada durante o exercício em comparação aos animais tratados com salina. A concentração de glicose plasmática não foi diferente entre os grupos quando avaliada em percentual do tempo de exercício. Esses dados sugerem que a redução no tempo total de exercício não está relacionada à disponibilidade de substrato energético. Os ratos adrenodemedulados apresentaram tempo total de exercício semelhante ao dos ratos controle. Entretanto, foram verificadas concentrações plasmáticas de glicose e ácidos graxos livres maiores nos animais adrenodemedulados comparadas aos do grupo controle. Esse resultado demonstra que as medulas adrenais são importantes para o mecanismo de retro-alimentação, possibilitando um ajuste preciso na disponibilidade energética. Além disso, a injeção

de atropina intracerebroventricular em animais adrenodemedulados reduziu ainda mais o tempo total de exercício comparado aos animais intactos.

Segundo LIMA et al. (1998), os neurônios colinérgicos que controlam a atividade motora podem estar localizados dentro da linha ependimal do ventrículo ou em tecidos nervosos adjacentes ao sistema ventricular, embora seja difícil prever a qual distância os fármacos utilizados se espalhem a partir do ventrículo em uma concentração efetiva. Dessa forma, é difícil determinar quais os núcleos envolvidos nas respostas desencadeadas pela injeção de drogas nos ventrículos cerebrais.

#### **2.4- Participação das sinapses colinérgicas dos núcleos ventromediais hipotalâmicos na homeostase**

Dentre as áreas cerebrais periventriculares específicas, encontram-se os núcleos ventromediais hipotalâmicos (VMH), os quais estão relacionados ao controle do metabolismo (VISSING et al., 1989; BALKAN et al., 1991; BRITO et al., 1993; NARTITA et al., 1994), da alimentação (VILBERT et al., 1984) do sistema cardiovascular (LIMA, 2000) e ainda, da termorregulação (IMAI-MATSUMURA et al., 1988; MONDA et al., 1997). Esse núcleo ainda está relacionado a alguns comportamentos, dentre eles a motivação para a corrida (YOKAWA et al., 1989) e as respostas do medo inato, como aquelas verificadas na presença de um predador (CANTERAS, 2003).

LUITEN e ROOM (1980) demonstraram as conexões intra-hipotalâmicas a partir do VMH, da área hipotalâmica lateral (LH) e do hipotálamo dorsomedial. Por meio da técnica do transporte retrógrado da peroxidase, foi verificado que o VMH possui conexões com a área preótica, com o núcleo hipotalâmico anterior, com o núcleo supraquiasmático e com o núcleo paraventricular hipotalâmico. Foram ainda verificadas marcações no hipotálamo dorsomedial e no tecido ependimal da parede do 3º ventrículo. Não foram demonstradas conexões entre o VMH e o LH, embora ambos os núcleos apresentem interconexões com células em comum.

Além disso, o estudo de NARITA et al. (1998) utilizando a técnica de gravação de atividade de multiunidades (MUI), que grava a atividade elétrica de uma população discreta de neurônios, por meio de eletrodos implantados nos núcleos subtalâmicos

(ZI-STN) e nos núcleos segmentais pedunculopontineos (PPN) mostraram que a excitação de neurônios por meio da ligação ao kainato (KA), um tipo de receptor glutamatérgico, no VMH são transmitidas por esse dois locais cerebrais.

Microinjeções de carbacol (50 nmol) ou neostigmina (25 nmol) em 0,5 mL de salina nos VMH de ratos conscientes, alimentados, produziram um aumento nas concentrações de glicose e lactato plasmáticos, os quais foram reduzidos por prévia adrenalectomia. Além disso, foi utilizada a taxa de incorporação do  $C^{14}$  de uma solução bicarbonato infundida (0,60  $\mu$ L, 0,20  $\mu$ Ci/min), como índice de atividade gliconeogênica. Foi verificado um aumento na taxa de incorporação do  $C^{14}$  após administração de neostigmina nos VMH. Esses dados sugerem que as sinapses colinérgicas nos VMH participam do sistema glicorregulatório central aumentando a produção de glicose hepática, principalmente pela estimulação da secreção de adrenalina pela medula adrenal (BRITO et al., 1993).

A estimulação elétrica ou química dos VMH e dos núcleos hipotalâmicos laterais (LH) na captação de glicose periférica foi estudada pelo método 2-deoxi-D- $[^3H]$ -glicose em ratos anestesiados. A estimulação elétrica dos VMH, aumentou em 8 vezes a captação de glicose no tecido adiposo marrom, em 3 vezes no coração e 1,5 vez no músculo esquelético. Entretanto, a estimulação não alterou a captação de glicose no tecido adiposo branco, no diafragma e cérebro. Além disso, não foram detectadas alterações nas concentrações de insulina plasmáticas. A estimulação química do VMH por microinjeção de glutamato também aumentou a captação de glicose no tecido adiposo marrom, no coração e preferencialmente, no músculo esquelético, o que indica que a mobilização de glicose nesse tecido é derivada de ativação de neurônios do VMH. A estimulação elétrica ou química do LH não induziu nenhuma alteração na captação de glicose para nenhum tecido. Além disso, quando realizada a desnervação simpática, foi suprimida a resposta aumentada na captação de glicose pelo tecido adiposo marrom. Dessa forma, pode-se concluir que a captação de glicose em alguns tecidos periféricos é acelerada seletivamente pela ativação de neurônios do VMH. Além disso, essa ação é independente da concentração de insulina plasmática, mas parece ser mediada pelo sistema nervoso simpático (SUDO et al., 1991).

Alguns estudos propõem que o VMH seja uma área que possui uma função no aumento da atividade do nervo simpático eferente do tecido adiposo marrom durante



a exposição aguda ao frio. Além disso, o VMH e outras áreas ainda não determinadas possuem um efeito de estimulação tônica na via final comum que inerva o tecido adiposo marrom, via nervo simpático eferente (NIIJIMA et al., 1984; NAGASHIMA et al., 2000).

NIIJIMA et al. (1984), utilizando técnicas eletrofisiológicas, demonstraram a presença de uma conexão entre a área do núcleo ventromedial do hipotálamo e o tecido adiposo marrom interescapular em ratos. Uma lesão elétrica nos VMH foi feita nos ratos e os animais controles foram submetidos ao processo de lesão-sham. Os animais foram anestesiados e colocados em uma caixa preenchida com água a 5°C-8°C, a qual reduzia a temperatura da pele de 20°C para 7°C. Assim, era possível avaliar a atividade do nervo simpático para o tecido adiposo marrom em resposta ao frio, após lesão aguda nos VMH (20 segundos) e crônica (após 4 a 7 dias). A atividade espontânea do nervo simpático eferente para o tecido adiposo marrom de ratos sham foi aumentada em resposta a exposição ao frio, enquanto não foi observada essa resposta aumentada nos animais lesionados no VMH. A atividade do nervo simpático para o tecido adiposo marrom foi reduzida em 80% dentro de 30 minutos após a lesão dos VMH. Esses dados sugerem que os VMH participam da modulação da atividade do nervo simpático eferente para o tecido adiposo marrom.

Lesões nos VMH foram utilizadas por VILBERT et al. (1984) para verificar a participação desse núcleo sobre a atividade, o consumo de oxigênio e a composição corporal de ratas. Inicialmente, 27 ratas foram divididas em três grupos iguais. Dois grupos foram submetidos a lesão no VMH, enquanto o terceiro grupo recebeu a lesão-sham. As lesões foram produzidas eletricamente (2 mA durante 15 segundos) no VMH de ratas sob efeito de anestesia. Após os experimentos, as ratas foram sacrificadas e as carcaças avaliadas. Um grupo de ratas com o VMH lesionado foi submetido à restrição alimentar com o objetivo de manutenção de peso. O consumo de oxigênio desse grupo de ratas foi 13% menor que de ratas intactas, sem lesão no VMH. É descrito que pelo menos metade dessa redução em energia é devido a menor atividade e o restante a uma redução na taxa metabólica de repouso. Além disso, a composição corporal dessas ratas foi anormal, sendo que a carcaça protéica foi reduzida em 12% enquanto a gordura foi elevada em 200%. Essa reposição de gordura pela carcaça protéica parece ser um efeito compensatório na redução da taxa metabólica de repouso. O grupo de ratas lesionadas com

alimentação irrestrita não apresentou declínio protéico em suas carcaças, porém sua gordura corporal foi elevada em 895%. Esse resultado confirma que a atividade reduzida contribui para o armazenamento energético e ganho de peso corporal após lesão nos VMH. Sugere-se que esse maior ganho de peso corporal seja causado por uma redução na atividade física comportamental, bem como pela ausência de respostas termogênicas do tecido adiposo marrom quando se restringe a alimentação. Assim, parece que os VMH participam da modulação da taxa metabólica de repouso e conseqüente mobilização energética.

NARITA et al. (1998) lesionaram eletronicamente (1 mA durante 5 segundos) o ZI-STN e o PPN com o objetivo de verificar se a transmissão excitatória do VMH para esses locais participa da modulação da atividade de corrida em ratos. A atividade de corrida foi quantificada pelo número de revoluções de uma "running wheel" durante 3 horas, após a injeção de kainate (KA) nos VMH. A lesão desses locais bloqueou completamente a ativação da corrida induzida por kainato nos VMH. Dessa forma, os dados concluem que vias neurais originárias nos VMH comandam a atividade de corrida pelo ZI-STN e pelo PPN. Além disso, as sinapses glutamatérgicas e gabaérgicas nos VMH estão envolvidas na atividade de corrida (NARITA et al., 1994).

A co-injeção de kainato ou bicuculina nos VMH de ratos conscientes provocou um aumento nas concentrações de glicose e catecolaminas plasmáticas, embora tenha induzido hiper atividade para corrida. Em suma, foi proposto que os receptores glutaminérgicos nos VMH possuem uma função na indução da corrida e, simultaneamente um aumento na atividade do sistema nervoso simpático com resultante aumento nas concentrações de glicose sanguínea. Ainda, o sistema gabaérgico nos VMH suprimiu a atividade do sistema nervoso simpático (NARITA et al., 1994).

Muitos estudos têm sido conduzidos utilizando o exercício físico como modelo experimental com objetivo de se avaliar as respostas induzidas pelo aumento da atividade simpática (VISSING et al., 1989; BALKAN et al., 1991).

VISSING et al. (1989) estudaram os efeitos da anestesia dos VMH sobre as respostas hormonais e metabólicas ao exercício. O bloqueio do VMH por meio do anestésico local Marcain atenuou o aumento nas concentrações plasmáticas de glicose verificadas durante o exercício. Essa redução na glicemia foi acompanhada

pela redução nas concentrações de noradrenalina e adrenalina, sugerindo que os VMH estejam envolvidos na mobilização energética durante o exercício e que essa estimulação envolve o sistema simpato-adrenal. Os dados ainda sugerem que houve uma redução relativa nas concentrações de corticosterona e de glucagon, simultaneamente à estimulação da secreção de insulina. Em repouso, a anestesia do VMH induziu uma resposta contrária aquela verificada durante o exercício. A infusão de Marcain causou um aumento do metabolismo e das respostas endócrinas semelhantes aquelas verificadas durante o exercício, embora os animais não tenham aumentado sua atividade. Foram observados aumentos nas concentrações plasmáticas de catecolaminas, de glucagon, de glicose e lactato. Os autores sugeriram que a anestesia dos VMH pode ter inibido a atividade de neurônios de ação inibitória sobre o sistema nervoso simpático e sobre os corticotrófos da hipófise anterior.

YOKAWA et al. (1990) demonstraram a existência de neurotransmissores GABA inibitórios nos VMH de ratos. A injeção de hidrogel, um polímero absorvente de água, nos VMH induz uma deficiência do neurotransmissor GABA nesse núcleo. Dessa forma, os neurônios relacionados à corrida sofrem ação inibitória gabaérgica. O bloqueio dos receptores GABA-A induziu a realização de atividade de corrida espontânea na roda de corrida cuja intensidade foi dependente da dose de bicuculina administrada. A evidência do envolvimento inibitório de neurônios gabaérgicos surgiu com a co-administração de hidrogel e de GABA que reduziu a atividade de corrida dos ratos nas rodas de corrida, em comparação com administração apenas do hidrogel. Sugeriu-se que a pressão produzida pelo inchaço do hidrogel deforme severamente a arquitetura celular dos VMH, interrompendo as redes neurais com as aferências responsáveis pela retro-alimentação dos órgãos periféricos e impedindo a inibição do estímulo para a realização da corrida.

LIMA (2000) verificou que o bloqueio das terminações nervosas dos VMH reduziu o tempo total de exercício realizado a 80% do  $VO_{2max}$  de ratos não treinados. Os animais tratados com metilatropina apresentaram uma redução de 46% na duração do exercício comparado ao grupo controle. Entretanto, esse bloqueio colinérgico não alterou os limites máximos de transformação de energia pela via oxidativa, uma vez que os ratos tratados com metilatropina e com salina apresentaram capacidades aeróbicas máximas e velocidades máximas de corrida semelhantes durante um

exercício progressivo até a fadiga. Durante o exercício a 80% do  $VO_{2max}$ , todas as variáveis medidas, concentração plasmática de glicose e lactato, pressão arterial média e frequência cardíaca, foram antecipadas em cerca de 50% do tempo total de exercício. Entretanto, essas variáveis foram semelhantes no momento da fadiga, mesmo que esta tenha ocorrido em diferentes momentos nas situações experimentais. O estudo de LIMA (2000) sugere que os neurônios colinérgicos presentes nos VMH estão envolvidos na integração central da retro-alimentação proveniente dos diferentes sistemas durante o exercício e/ou nos ajustes de pré-alimentação provenientes dos centros cerebrais superiores. O bloqueio desses neurônios causa o aumento da intensidade do exercício percebida centralmente, indicada pela antecipação das respostas simpáticas e, portanto a decisão de interrupção do exercício é antecipada nos animais tratados com metilatropina.

LIMA (2000) ainda verificou o efeito das sinapses colinérgicas sobre a termorregulação de ratos, demonstrando resposta semelhante da temperatura corporal interna às outras variáveis em relação ao tempo total de exercício.

IMAI-MATSUMURA et al. (1988) já haviam verificado respostas térmicas de neurônios dos VMH *in vivo* e *in vitro*. Foi questionada a dificuldade técnica de se aplicar, *in vivo*, um estímulo térmico seletivo na PO/AH, sem estimular simultaneamente os VMH, uma vez que essas duas regiões são próximas. Nos experimentos *in vivo*, foi registrada atividade elétrica de neurônios no VMH em resposta ao estímulo térmico na PO/AH, em ratos anestesiados. Dos 44 neurônios que receberam eletrodos, 7 foram sensíveis ao calor, 11 foram sensíveis ao frio e 26 não apresentaram resposta ao estímulo térmico. Já nos experimentos *in vitro*, os ratos foram decapitados e as fatias de tecido cerebral contendo os VMH foram imersas em solução de Krebs-Ringer oxigenada. A temperatura da solução foi variada entre 33°C e 42°C para estimular os neurônios dos VMH. Dos 47 neurônios que receberam eletrodos, 27 foram sensíveis ao calor, 1 foi sensível ao frio e 19 não apresentaram respostas ao estímulo térmico. Os autores hipotetizam que as diferenças nos experimentos *in vivo* e *in vitro* podem ser explicadas por alguns neurônios sensíveis ao calor terem atuado como neurônios sensíveis ao frio, uma vez que o resfriamento local não tenha estimulado a maioria dos neurônios dos VMH *in vitro*.

Embora LIMA (2000) tenha verificado a participação das sinapses colinérgicas dos VMH sobre a termorregulação durante o exercício até a fadiga, não foi demonstrado o controle desse núcleo em condições térmicas neutras ambientais durante a atividade física. Ou seja, a participação colinérgica dos núcleos ventromediais hipotalâmicos em uma condição ambiental em que a produção de calor seja semelhante à dissipação de calor durante o exercício até a fadiga. Dessa forma, em condição controle não haveria alterações na taxa de variação de calor e estimulação de neurônios sensíveis a temperatura. Esse estudo se faz necessário, uma vez que WANNER ET al. (2007) observaram uma redução no tempo total de exercício de ratos após a injeção de metilatropina. A diminuição no tempo até a fadiga esteve associada ao aumento da taxa de acumulação de calor, induzida, provavelmente, a um atraso na dissipação de calor. Além disso, não é conhecido se a atividade termogênica dos VMH é dependente da temperatura ambiente e do aumento da taxa metabólica induzido pelo exercício.

Dessa forma, o objetivo do estudo foi verificar o efeito do exercício físico e da temperatura ambiente sobre a atividade termogênica dos núcleos ventromediais do hipotálamo. Ainda, busca-se definir uma temperatura ambiente na qual a temperatura interna não é alterada durante o exercício físico a 20m/min, 5%de inclinação, até a fadiga.

### **3- MATERIAIS E MÉTODOS**

### **3.1- Cuidados Éticos**

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CETEA) da Universidade Federal de Minas Gerais (Protocolo 098/06; Anexo 1).

### **3.2- Animais**

Foram utilizados ratos adultos da linhagem Wistar pesando entre 250 e 350 gramas, provenientes do Centro de Bioterismo do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais. Após a cirurgia para implante de cânulas crônicas nos núcleos ventromediais do hipotálamo, os animais permaneceram em gaiolas individuais (40 x 33 x 17 cm), em uma sala mantida à temperatura seca de  $24,02 \pm 0,65^\circ \text{C}$ , sob ciclo claro-escuro de 14,00 - 10,00 h sendo as luzes acesas às 5,00 h, com acesso a ração granulada (NUVILAB) e água *ad libitum*.

### **3.3- Seleção dos animais**

Para garantir que todos os animais utilizados nesse trabalho fossem capazes de correr em uma esteira rolante (Columbus, USA), foram selecionados apenas aqueles que previamente conseguiram correr a uma velocidade de 18m/min e 5% de inclinação durante 5 minutos (LIMA, 2000).

### **3.4- Implante de cânulas crônicas nos núcleos ventromediais do hipotálamo**

O implante das cânulas crônicas nos núcleos ventromediais hipotalâmicos foi realizado sob efeito anestésico de tiopental de sódio (50mg/kg de peso corporal, i.p). Após depilação e assepsia da porção superior da cabeça, foi realizada uma incisão longitudinal da pele e do tecido subcutâneo. O tecido perióstio foi afastado com auxílio de solução de cloridrato de lidocaína 2% e de adrenalina. Em seguida, o

animal foi posicionado ao estereotáxico (David Kopf – 900, para pequenos animais) para o implante das cânulas nos núcleos ventromediais hipotalâmicos. As coordenadas estereotáxicas utilizadas foram: 2,5 mm posterior ao bregma; 0,6 mm a partir da linha mediana; 9 mm de profundidade a partir da dura máter, segundo o atlas de PAXINOS e WATSON (1986). A craniotomia para a implantação das cânulas (0,3 mm de diâmetro externo e 20 mm de comprimento) foi realizada por meio de uma broca odontológica. As cânulas foram apoiadas à calota craniana com auxílio de parafusos e fixadas com cimento odontológico auto-polimerizável. Para evitar obstrução, as cânulas tiveram o orifício interno protegido por um mandril de aço inoxidável (0,1 de diâmetro externo).

Após o procedimento cirúrgico, os ratos receberam 0,1mL de antibiótico (48.000U – Pentabiótico Veterinário Pequeno Porte, via intramuscular) em cada pata traseira, além de analgésico (Banamine injetável, 1,1mg/kg de peso corporal, via subcutânea) no volume de 0,2mL em uma das patas traseiras. Foi permitido um período de recuperação até que os animais retornassem ao peso pré-cirúrgico. O período de recuperação cirúrgica teve em média 3 dias.

### **3.5- Adaptação ao exercício na esteira rolante**

Após a recuperação do peso pré-cirúrgico, os animais foram habituados a correr em uma esteira rolante para pequenos animais a uma velocidade constante de 18m/min e 5% de inclinação, aproximadamente 67%  $VO_{2max}$  (LIMA, 2000), 5 minutos por dia, durante 5 dias consecutivos. A adaptação foi realizada em temperatura ambiente de 23°C e 50%URA mantidos por uma câmara ambiental (Russels®). Nos 3 últimos dias de adaptação, os animais foram habituados ao uso do termistor de pele afixado



no terço proximal da cauda. O protocolo de adaptação ao exercício na esteira rolante é descrito cronologicamente na figura 1.

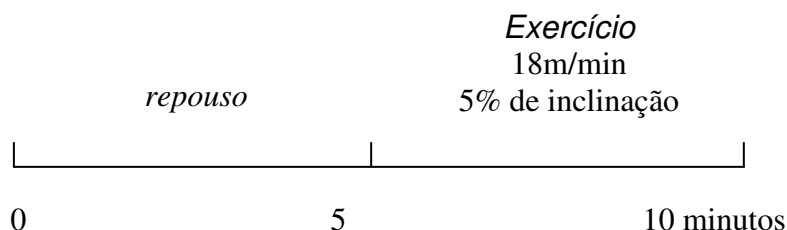


Figura 1: Protocolo de adaptação ao exercício físico em esteira rolante.

### **3.6- Implante do sensor para registro da temperatura interna dos animais**

No quinto dia de adaptação ao exercício em esteira rolante, sob efeito anestésico de 2,2,2 tribromoetanol 2,5% (1 mL/100 g de peso corporal, i.p), foi feita uma incisão ventral de aproximadamente 2 cm, seguida de outra incisão na linha alba do músculo reto abdominal, possibilitando o acesso à cavidade peritoneal. Após a inserção do sensor, o músculo abdominal e a pele do animal foram suturados. Antibiótico e analgésico foi administrado em dose semelhante à administrada na primeira cirurgia. Houve um período de recuperação do peso pré-cirúrgico.

### **3.7- Injeção nos núcleos ventromediais hipotalâmicos**

Uma injeção de 0,2 µL de solução de metilatropina ( $2,5 \times 10^{-2}$  M) (Sigma, St. Louis, MO) ou de NaCl (0,15 M) foi realizada nos núcleos ventromediais hipotalâmicos utilizando-se uma seringa (Hamilton Company, Nevada, EUA) de 1 µL conectada por um tubo de polietileno, PE10, às cânulas cerebrais. A injeção foi realizada em cada núcleo ventromedial hipotalâmico durante 1 minuto para evitar o aumento da

pressão hidrostática. Em todas as situações experimentais, a injeção foi realizada dois minutos antes à entrada na câmara ambiental.

A dose do antagonista colinérgico foi a mesma utilizada por IGUCHI et al. (1991), os quais demonstraram que a injeção de sulfato de atropina  $5 \times 10^{-9}$  mol, bilateralmente nos VMH, bloqueou o aumento da concentração de glicose plasmática induzido pela estimulação colinérgica do hipocampo dorsal. A injeção de atropina  $5 \times 10^{-8}$  mol não produziu efeitos adicionais, enquanto  $5 \times 10^{-10}$  mol bloqueou parcialmente a resposta hiperglicêmica.

### **3.8- Variáveis medidas**

#### **3.8.1- Temperatura interna**

Para medir a temperatura interna dos ratos foram utilizados sensores de temperatura (Mini-Mitter, Sunriver, OR, modelo TR3000 VM-FM, peso de 2,2 g), contendo uma bateria (3-V lithium).

O sensor para registro de temperatura interna, inserido intraperitonealmente, é um capacitor oscilatório de resistência simples cujo valor é dependente de temperatura. A frequência de saída dos pulsos digitais provenientes dos sensores está entre 297-713 KHz. Os pulsos foram captados por uma placa receptora AM (modelo RA1000 TH, Mini Mitter Co.) posicionada na parte lateral da esteira, e enviados para um decodificador. As informações foram repassadas para um software (Vital View, Mini Mitter) que armazenou os dados.

#### **3.8.2- Temperatura da pele da cauda**

A temperatura da pele da cauda do rato foi medida por ser um índice de dissipação de calor. Um termistor (Yellow Spring Instruments – YSI) acoplado a um

teletermômetro (YSI – 400A) foi utilizado. O termistor foi afixado no terço proximal da porção lateral da cauda do rato por meio de esparadrapo impermeável.

### **3.8.3- Tempo total de exercício**

O tempo total de exercício, em minutos, corresponde ao intervalo de tempo entre o início do exercício e o momento em que os ratos fadigaram e foi medido por um cronômetro com precisão de 0,01 segundos. A fadiga foi determinada como o momento em que o rato não conseguiu manter a intensidade de exercício pré-estabelecida, sujeitando-se ao estímulo elétrico de 0,5 mV e 0,5 mA por pelo menos 10 segundos (LIMA, 2000; LIMA et al, 1998; LIMA et al, 2001). O responsável pela determinação do momento da fadiga não teve acesso ao tempo de exercício realizado pelo animal, além de não ter conhecimento sobre qual a substância injetada nas situações experimentais.

## **3.9- Variáveis de controle**

### **3.9.1- Peso dos animais**

Os animais foram pesados diariamente e anterior à realização dos experimentos por meio de uma balança eletrônica (Filizola®) com precisão de 0,5 g. O peso dos animais foi utilizado como parâmetro para verificar a recuperação cirúrgica.

### **3.9.2- Temperatura ambiente**

As situações experimentais foram realizadas em ambiente controlado por uma câmara ambiental (Russels®) sendo definidas a partir da existência de uma temperatura ambiente em que a temperatura interna do animal não foi alterada durante o exercício físico até a fadiga. O objetivo de determinar a temperatura

ambiente seca para o experimento é para que fosse possível obter uma variação de calor corporal igual a zero para ratos da linhagem Wistar correndo em esteira rolante a 20 m/min e 5 % de inclinação até a fadiga. A umidade relativa do ar foi de 50%. Posteriormente, a temperatura ambiente seca foi alterada para um valor inferior e outro superior a temperatura ambiente “neutra” encontrada. Dessa forma, foi possível verificar se a função termorregulatória do VMH é dependente da temperatura ambiente. Foi realizada uma situação experimental a temperatura ambiente de 23°C, controlada pela câmara ambiental, com os animais em repouso, para que fosse permitida a verificação dos efeitos da entrada na câmara ambiental na temperatura corporal dos ratos.

### **3.9.3- Temperatura no interior da esteira**

A temperatura seca no interior da esteira foi medida a cada minuto da situação experimental, utilizando um termistor (YSI) posicionado na parte superior da esteira, acoplado ao teletermômetro.

## **3.10- Variáveis calculadas**

### **3.10.1- Variação de calor e taxa de variação de calor**

A variação de calor foi calculada por meio da seguinte fórmula, proposta por GORDON (1993):

$$AC=P.CE.\Delta tint$$

sendo:

AC: variação de calor (cal);

CE= calor específico dos tecidos ( $0,82586 \text{ cal. g}^{-1} . ^\circ \text{ C}^{-1} = 3,5 \text{ kJ.g}^{-1} . ^\circ \text{ C}^{-1}$ );

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

P = massa dos animais antes de cada situação experimental (g).

A taxa de variação de calor foi calculada dividindo-se a variação de calor pelo intervalo de tempo analisado.

$$TAC = \frac{P \cdot CE \cdot \Delta T_{int}}{T}$$

sendo:

T = tempo, duração do intervalo em minutos.

### **3.10.2- Índice de dissipação de calor**

O índice de dissipação de calor varia de 0 (vasoconstricção máxima; temperatura da pele = temperatura ambiente) a 1 (vasodilatação máxima; temperatura da pele = temperatura interna). O índice de dissipação de calor foi utilizado para estimar a dissipação de calor pela cauda dos ratos.

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

### **3.10.3- Trabalho realizado**

O trabalho foi calculado de acordo com a fórmula proposta por BROOKS e WHITE (1978):

$$\text{Trabalho (kgm)} = P \cdot m/\text{min} \cdot \text{seno } \theta \cdot T$$

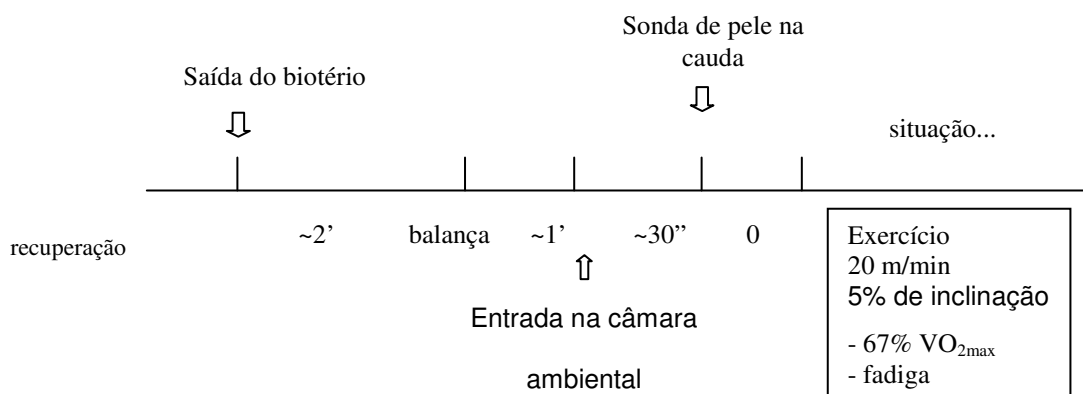
Onde:

m/min: velocidade da esteira rolante.

seno  $\theta$ : seno do ângulo de inclinação da esteira rolante.

### 3.11 - Delineamento Experimental – 1

Um sensor de temperatura foi implantado na região peritoneal para registro da temperatura corporal interna. Cada rato foi submetido ao exercício em esteira rolante, a velocidade de 20m/min e 5% de inclinação até a fadiga em diferentes temperaturas ambientes secas ( $^{\circ}$  C). As temperaturas iniciais escolhidas foram  $8^{\circ}$  C,  $12^{\circ}$  C e  $15^{\circ}$  C. O objetivo deste procedimento foi verificar a existência ou não de uma temperatura ambiente em que a variação de calor corporal dos ratos fosse zero. Dessa forma, seria possível o estudo dos fatores que regulam a termorregulação dos ratos durante o exercício até a fadiga. Além de anular um dos fatores, o aumento ou redução da temperatura corporal interna, que predisõem à fadiga durante o exercício. A colheita dos dados foi realizada entre 13,00 e 18,00 h. Após a saída do biotério, o animal foi pesado e transferido para a câmara ambiental. Imediatamente à entrada do animal na câmara ambiental, foi afixado o termistor de pele no terço proximal lateral da cauda do rato. Em seguida, o animal foi transferido para a esteira rolante e iniciado o exercício até a fadiga. A temperatura interna do rato foi medida a cada 15 segundos por telemetria. As temperaturas do interior da esteira e a temperatura seca da câmara ambiental, além da URA em % foram anotadas a cada minuto e a temperatura da pele da cauda foi anotada a cada 30 segundos. Após o término da situação experimental, o animal retornou ao biotério. O protocolo experimental desenvolvido no delineamento 1 é descrito esquematicamente na figura 2.



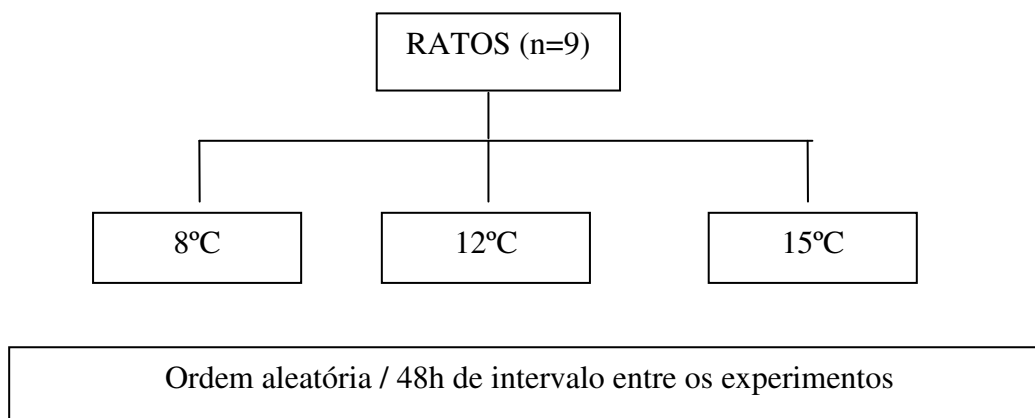


Figura 2: Representação esquemática do delineamento experimental 1.

Os estudos anteriores do laboratório realizaram exercício em temperaturas ambiente entre 0° C, na qual observaram um componente hipotérmico associado à fadiga, e 18° C, na qual foi verificada fadiga com aumento de temperatura interna. Assim, foram escolhidas, inicialmente, 3 temperaturas ambientes contidas nessa faixa, 5, 12 e 15° C (WANNER, 2003; RODRIGUES et al., 2003).

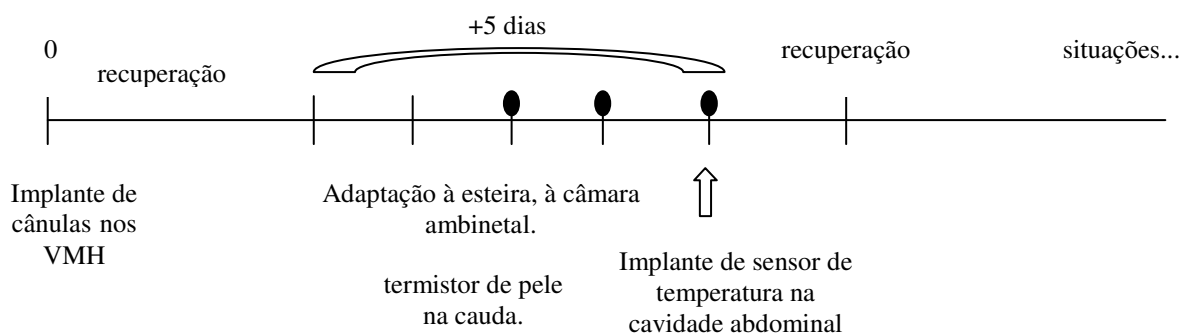
### 3.12- Delineamento Experimental – 2

A colheita dos dados foi realizada entre 13,00 e 18,00 h. Cada animal foi submetido a 4 situações experimentais, repouso-salina (RS), repouso-metilatropina (RMATR), exercício-salina (ES), exercício-metilatropina (EMATR), com intervalo mínimo de 48 horas. As situações experimentais foram aleatórias. Os experimentos foram realizados de forma velada.

Após a saída do biotério, o animal foi pesado e transferido para uma mesa onde recebeu uma injeção de 0,2 µL de  $2,5 \times 10^{-2}$  M de metilatropina ou de NaCl 0,15 M. Em seguida, os ratos foram levados para a câmara ambiental cuja temperatura ambiente foi mantida à temperatura ambiente seca determinada pelo primeiro

delineamento experimental de 12° C e 50%URA. Após as situações experimentais na temperatura ambiente de 12° C foram realizadas as mesmas situações em uma temperatura ambiente superior, 15° C, e outra inferior, 5° C, a temperatura “neutra” de 12° C. A temperatura interna e a temperatura da pele da cauda dos ratos também foram medidas no ambiente de 23°C e 50% URA dentro da câmara ambiental. O objetivo foi verificar se a exposição à câmara ambiental altera essas variáveis.

Imediatamente a entrada do animal na câmara ambiental, o termistor de pele foi afixado no terço proximal lateral da cauda do rato. Em seguida, o animal foi transferido para a esteira rolante e iniciada a situação experimental, repouso ou exercício. A situação de repouso teve duração de 60 minutos. O exercício consistiu de uma corrida na esteira rolante a 20 m/min e 5 % de inclinação até a fadiga. Essa intensidade de exercício corresponde a aproximadamente 67 % do  $VO_{2max}$  de ratos não treinados (LIMA, 2000; SONNE e GALBO, 1980). Após a determinação da fadiga, houve um período de repouso de 30 minutos para medida das variáveis pós-exercício. A temperatura corporal interna do rato foi medida a cada 15 segundos por telemetria. As temperaturas do interior da esteira e a temperatura seca da câmara ambiental, além da URA em % foram anotadas a cada minuto e a temperatura da pele da cauda foi anotada a cada 30 segundos. Após o término da situação experimental, o animal retornou ao biotério. O protocolo experimental desenvolvido no delineamento 2 é descrito esquematicamente na figura 3.





Situações experimentais:

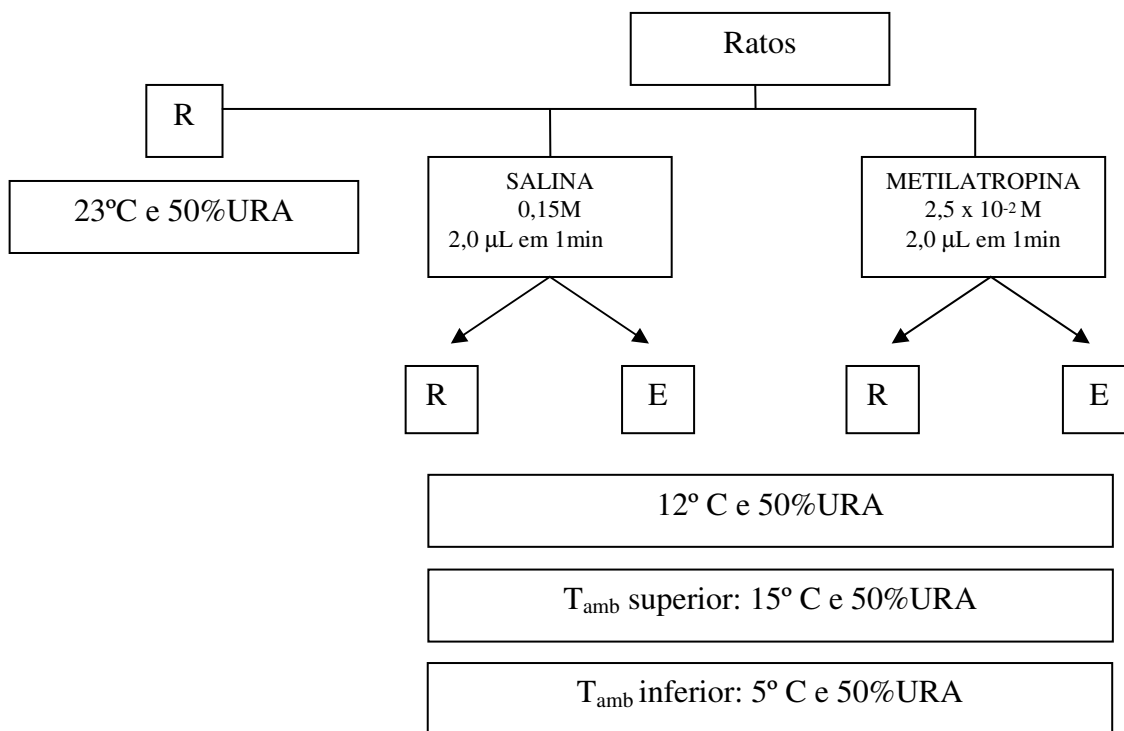
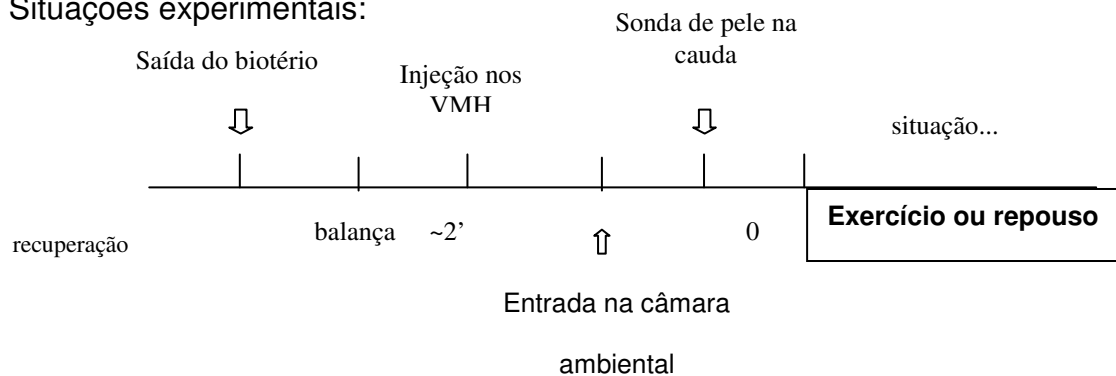


Figura 3: Representação esquemática do delineamento experimental 2.

### 3.13- Sacrifício e perfusão dos animais

Após a última situação experimental, os animais foram anestesiados com tiopental de sódio (50 mg/kg, i.p). Uma injeção de 0,2 µL de corante azul de metileno em cada um dos núcleos ventromediais do hipotálamo foi aplicada para verificação da localização das cânulas crônicas e por quais locais cerebrais houve difusão das

drogas. Uma incisão na região ventral foi realizada e o sensor de temperatura foi retirado e a possível existência de infecção causada pelo mesmo ou de aderência entre as vísceras e o aparelho foi verificada.

A incisão foi ampliada e o diafragma foi seccionado, permitindo o acesso ao coração. A artéria aorta foi canulada e o animal foi perfundido com salina 0,15 M. Assim que todo o sangue do animal foi substituído por solução salina, o animal foi perfundido com formaldeído 4%. O cérebro foi retirado e mantido em formaldeído 4%. Os cérebros foram transferidos do formaldeído para sacarose 30 % dois dias anteriores a verificação da posição das cânulas, ou seja, momento em que os cérebros foram fatiados em secções de 50  $\mu$ m.

### **3.14- Verificação da posição das cânulas centrais**

Os cérebros dos animais foram cortados em fatias de 50  $\mu$ m, a  $-13^{\circ}$  C, em um micrótomo de congelamento (Microm HM 505N). As fatias foram fixadas a lâminas gelatinizadas previamente. As lâminas foram hidratadas em água destilada e em seguida, foram coradas em solução cresil violeta a 0,13 % v/v. Esse corante reage com a parte ácida dos núcleos cerebrais. Os cortes cerebrais foram banhados em solução etanol a 70 % e etanol 100 % para retirar o excesso de corante. Por fim, as lâminas foram mantidas em xilol para tornar os cortes translúcidos, facilitando a visualização no microscópio. O tecido cerebral foi protegido por uma lamínula posicionada sobre cada lâmina com auxílio de cola biosintética (Entelan). A posição da cânula foi comparada ao atlas de Paxinos e Watson (1986). O protocolo de coloração das lâminas é descrito esquematicamente na tabela 1.

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

Tabela 1: Protocolo para coloração dos tecidos cerebrais com cresil violeta

### **3.15- Análise estatística**

Os dados foram expressos em média e erro padrão. A análise estatística da temperatura intraperitoneal ou temperatura corporal interna ( $T_{int.}$ ), temperatura de pele ( $T_{cauda}$ ) e temperatura da esteira ( $T_{esteira}$ ) foi realizada por meio de análise de variância (ANOVA) com parcelas subdivididas, seguida pelo teste das diferenças mínimas significativas (DMS). O tempo total de exercício e a variação de calor e a taxa variação de calor foram comparados por teste t de Student para amostras dependentes. Para verificar correlação entre variáveis foi utilizada a Correlação de Serman. O nível de significância adotado foi de 5%.

#### **4- RESULTADOS**

#### 4.1- DELINEAMENTO EXPERIMENTAL 1:

O objetivo foi verificar a existência de uma temperatura ambiente em que a taxa de variação de calor corporal (cal/min) dos ratos durante o exercício físico fosse zero. Cada rato intacto foi submetido ao exercício físico em esteira rolante, a uma velocidade de 20m/min e 5% de inclinação até a fadiga, em condições ambientais de 8º C, 12º C e 15º C e a umidade relativa do ar sempre mantida a 50 %.

##### 4.1.1- Tempo Total de Exercício (TTE)

O gráfico 1 apresenta os valores médios do tempo total de exercício, em minutos, dos ratos intactos nas temperaturas ambientes secas de 8º C, 12º C e 15º C. A URA foi de 50% para as três condições experimentais.

O tempo total de exercício não foi diferente nas três temperaturas ambientes secas (74,78 ± 12,81 minutos a 8ºC vs 63,97 ± 7,13 minutos a 12ºC vs 61,32 ± 6,80 minutos a 15ºC; p= 0,576).

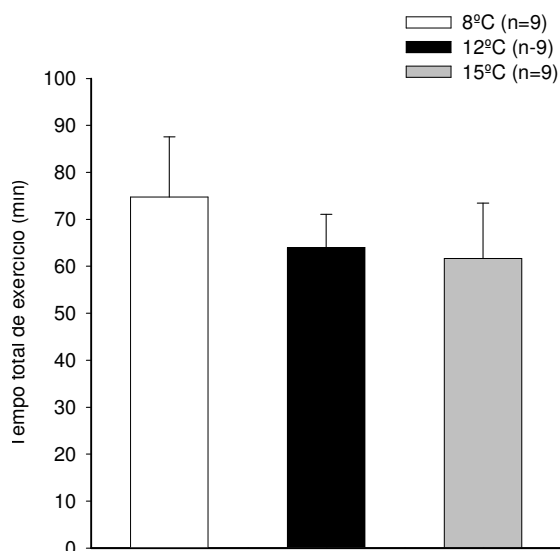


Gráfico 1: Tempo total de exercício de ratos intactos a 8ºC, 12ºC e 15ºC. Os dados estão expressos em média ± EPM.

#### 4.1.2- Temperatura interna, taxa de variação de temperatura interna e taxa de variação de calor

O gráfico 2.1 apresenta os valores médios da temperatura interna dos ratos intactos durante uma corrida a 20m/min e 5% de inclinação até a fadiga em temperaturas ambientes de 8°C, 12°C e 15°C.

A temperatura interna dos animais reduziu a partir do 28º minuto durante o exercício a 8°C e permaneceu reduzida até a fadiga ( $37,17 \pm 0,36^{\circ}\text{C}$  ao 0 minuto vs  $36,80 \pm 0,44^{\circ}\text{C}$  aos 28 minutos). A 12 °C, a temperatura interna não foi diferente do início do exercício até o momento da fadiga ( $37,15 \pm 0,33^{\circ}\text{C}$  ao 0 minuto vs  $37,15 \pm 0,44^{\circ}\text{C}$  na fadiga). Além disso, a 15°C, a temperatura interna aumentou durante o exercício a partir do 26º minuto e permaneceu elevada até a fadiga ( $37,04 \pm 0,31^{\circ}\text{C}$  ao 0 minuto vs  $37,42 \pm 0,40^{\circ}\text{C}$  aos 26 minutos).

A temperatura interna dos ratos foi maior ao ambiente de 15°C que a 12°C e a 5°C no momento da fadiga. E ainda, a temperatura interna dos ratos foi menor a 5°C comparada a 12°C no momento da fadiga.

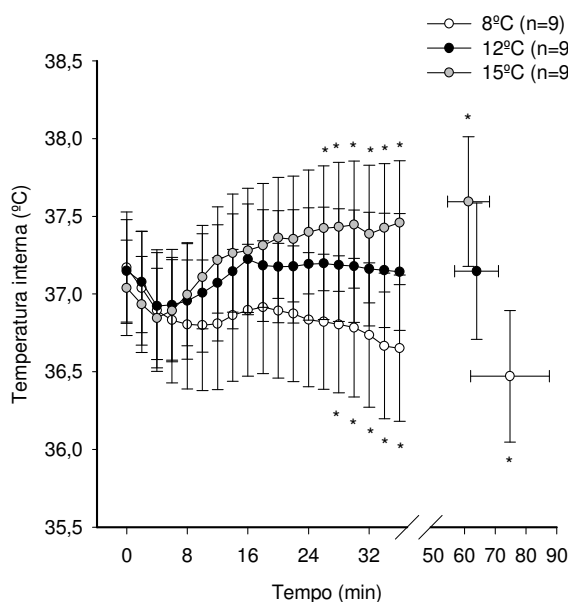


Gráfico 2.1: Temperatura interna, em °C, de ratos intactos durante o exercício físico até a fadiga a 8°C, 12°C, 15 °C. Os dados expressam média  $\pm$  EPM. \* =  $p < 0,05$  comparado ao 0 minuto.

O gráfico 2.2 apresenta os valores médios da taxa de variação da temperatura interna, calculada pela variação da temperatura do início ao final do exercício dividida pelo tempo desse período.

A taxa de variação da temperatura interna foi negativa nos ratos em exercício até a fadiga a 8°C ( $-0,01 \pm 0,00$  °C/min) e foi positiva a 15°C ( $0,01 \pm 0,00$  °C/min). A 12°C, a taxa de variação da temperatura interna foi zero ( $0,00 \pm 0,00$  °C/min). A taxa de variação de temperatura a 8°C foi menor que a 12°C e de 15°C. Além disso, a taxa de variação da temperatura interna a 15°C foi maior que a 12°C ( $p=0,0296$ ).

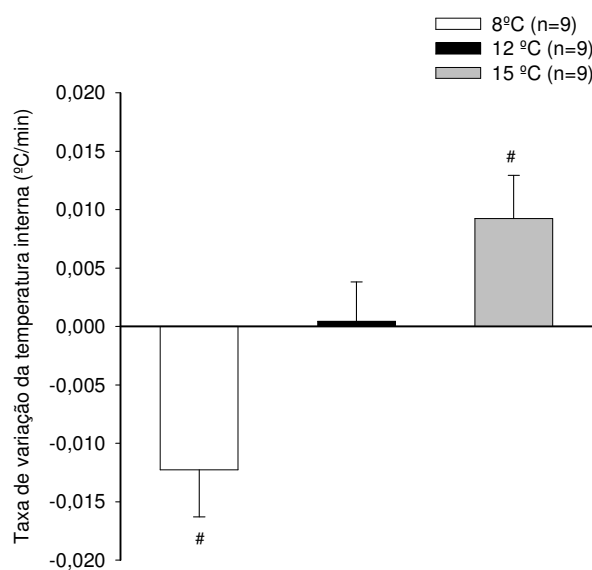


Gráfico 2.2: Taxa de variação da temperatura interna, °C/min, de ratos durante o exercício físico até a fadiga a 8°C, 12°C e 15°C. Os dados expressam média  $\pm$  EPM. # =  $p < 0,05$  comparado a 12°C.

O gráfico 2.3 apresenta os valores médios da taxa variação de calor calculada no intervalo entre o início do exercício e o momento da fadiga.

A taxa de variação de calor foi negativa para os ratos em exercício até a fadiga a 8°C ( $-2,89 \pm 0,94$  cal/min) e foi positiva a 15°C ( $2,15 \pm 0,87$  cal/min). Durante o exercício físico até a fadiga, a 12°C, a taxa de variação de calor foi igual à zero ( $0,13 \pm 0,79$  cal/min). A taxa de variação de calor zero encontrada para ratos em temperatura ambiente de 12°C, favorece o estudo de variáveis que regulam a termorregulação e o término da atividade física, pois anula um dos fatores, o

aumento ou redução da temperatura corporal interna, que predispõe à fadiga. As taxas de calor foram diferentes entre as diferentes condições de temperatura ambiente, 8°C, 12°C e 15°C ( $p=0,0077$ ).

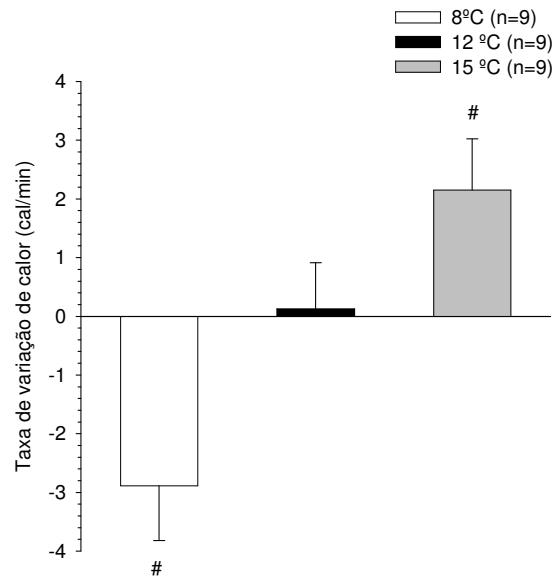


Gráfico 2.3: Taxa de variação de calor (cal/min) de ratos durante o exercício físico até a fadiga, a 8°C, 12°C e 15°C. Os dados expressam média  $\pm$  EPM. # =  $p < 0,05$  comparado a 12°C.



### 4.1.3- Temperatura da cauda e índice de dissipação de calor

O gráfico 3.1 apresenta os valores médios da temperatura da pele da cauda dos ratos intactos durante uma corrida a 20m/min e 5% de inclinação até a fadiga em ambiente de 8°C, 12°C e 15°C.

A temperatura da pele da cauda dos ratos reduziu a partir do 2º minuto de exercício em todos os ambientes, 8°C, 12°C, e 15 °C e permaneceu reduzida até a fadiga (8°C:  $20,68 \pm 0,44^{\circ}\text{C}$  ao 0 minuto vs  $18,30 \pm 0,51^{\circ}\text{C}$  aos 2 minutos); (12°C:  $22,96 \pm 0,35^{\circ}\text{C}$  ao 0 minuto vs  $20,36 \pm 0,39^{\circ}\text{C}$  aos 2 minutos); e (15°C:  $23,06 \pm 0,66^{\circ}\text{C}$  ao 0 minuto vs  $21,33 \pm 0,51^{\circ}\text{C}$  aos 2 minutos).

No momento da fadiga, a temperatura da pele da cauda dos ratos foi maior a 15°C que a 12º e a 8°C ( $11,35 \pm 0,18$  a 8°C vs  $14,69 \pm 0,24$  a 12°C vs  $18,57 \pm 0,58$  a 15°C). E ainda, a temperatura da pele da cauda dos ratos foi menor em um ambiente de 8°C comparada a 12°C.

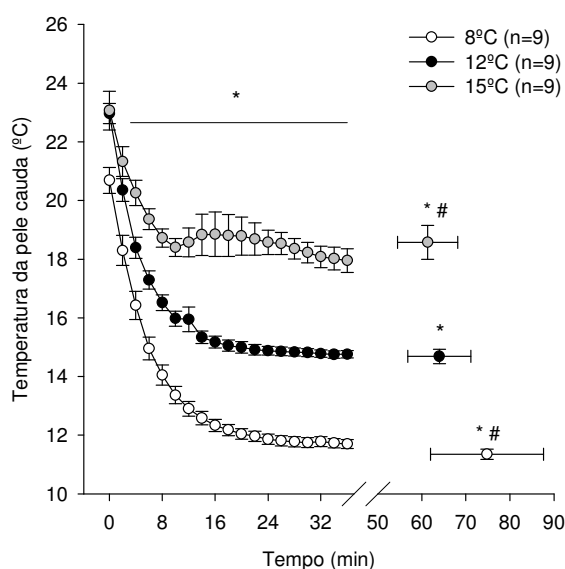


Gráfico 3.1: Temperatura da pele da cauda, em °C, de ratos intactos durante o exercício físico até a fadiga a 8°C, 12°C e 15 °C. Os dados expressam média  $\pm$  EPM. \* =  $p < 0,05$  comparado ao 0 minuto. # =  $p < 0,05$  comparado a 12°C.

O gráfico 3.2 apresenta os valores médios dos índices de dissipação de calor de ratos intactos durante o exercício até a fadiga a 8°C, 12°C, 15°C.

Em todas as situações experimentais, o índice de dissipação de calor reduziu após o 2º minuto de exercício e permaneceu reduzido até o momento da fadiga (8°C:  $0,42 \pm 0,01$  ao 0 minuto vs  $0,32 \pm 0,02$  aos 2 minutos); (12°C:  $0,42 \pm 0,01$  ao 0 minuto vs  $0,31 \pm 0,02$  aos 2 minutos) e (15°C:  $0,35 \pm 0,03$  ao 0 minuto vs  $0,26 \pm 0,02$  aos 2 minutos).

No momento da fadiga, o índice de dissipação de calor dos ratos foi maior a 15°C que a 12°C e a 8°C ( $0,03 \pm 0,00$  a 8°C vs  $0,04 \pm 0,01$  a 12°C vs  $0,10 \pm 0,02$  a 15°C).

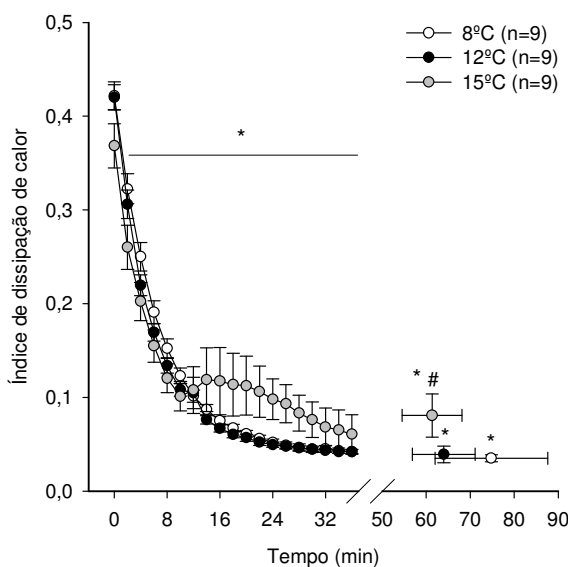


Gráfico 3.2: Índice de dissipação de calor de ratos durante o exercício físico até a fadiga a 8°C, 12°C e 15°C. Os dados expressam média  $\pm$  EPM. \* =  $p < 0,05$  comparado ao 0 minuto. # =  $p < 0,05$  comparado a 12°C.

#### 4.1.4- Trabalho realizado

A figura 4.1 representa o trabalho médio realizado durante o exercício até a fadiga a 8°C, 12°C e 15°C.

O trabalho realizado em kgm não foi diferente entre as três situações experimentais (8°C:  $33,93 \pm 6,27$  kgm vs 12°C:  $28,97 \pm 3,20$  kgm vs 15°C:  $27,60 \pm 3,05$  kgm).

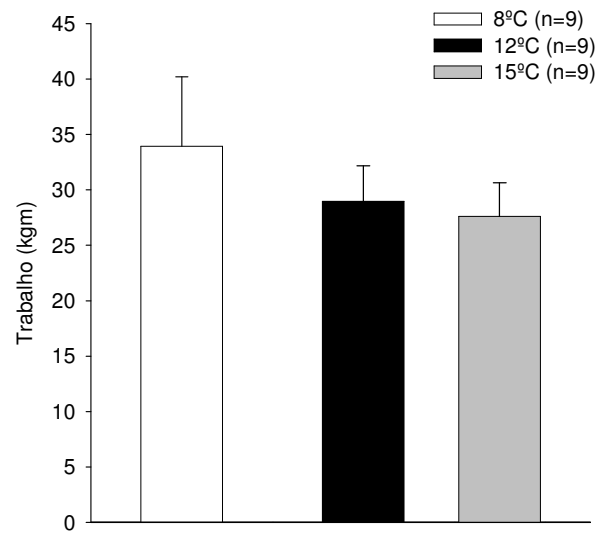


Gráfico 4.1: Trabalho realizado (kgm) pelos ratos durante o exercício físico até a fadiga a 8°C, 12°C e 15°C. Os dados expressam média  $\pm$  EPM.

## 4.2- DELINEAMENTO EXPERIMENTAL 2

### 4.2.1- Localização das cânulas crônicas

A figura 4 mostra a foto de uma lâmina com os cortes dos tecidos cerebrais com cânulas posicionadas bilateralmente nos VMH.

Os painéis das figuras 5, 6 e 7 representam esquemas com a localização das cânulas na região do hipotálamo. Nos experimentos referentes aos VMH (círculos pretos), as cânulas estavam bilateralmente posicionadas nas regiões dorsomedial e central dos núcleos. Os círculos vermelhos presentes no esquema representam as cânulas que não foram bilateralmente posicionadas nos VMH. Em alguns dos experimentos, as cânulas atravessaram a base do hipotálamo ou atingiram o terceiro ventrículo, o que impede a identificação dos núcleos para onde as injeções difundiram.

O primeiro conjunto de esquemas representa os experimentos realizados a 5°C (figura 5), o segundo a 12°C (figura 6) e o terceiro a 15°C (figura 7).

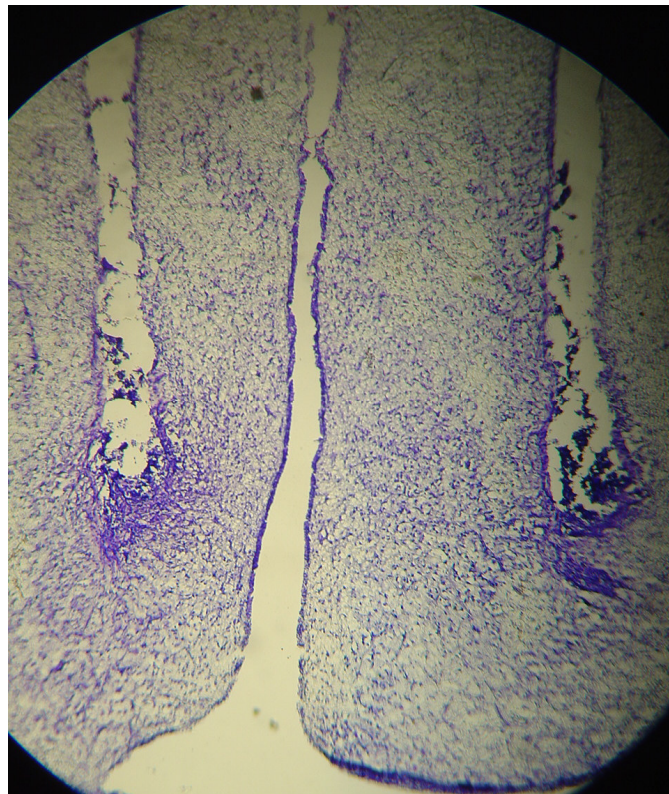


Figura 4: Foto da lâmina com corte frontal do tecido cerebral, após coloração com cresil violeta. Figura aumentada em 1:100 em microscópio óptico.

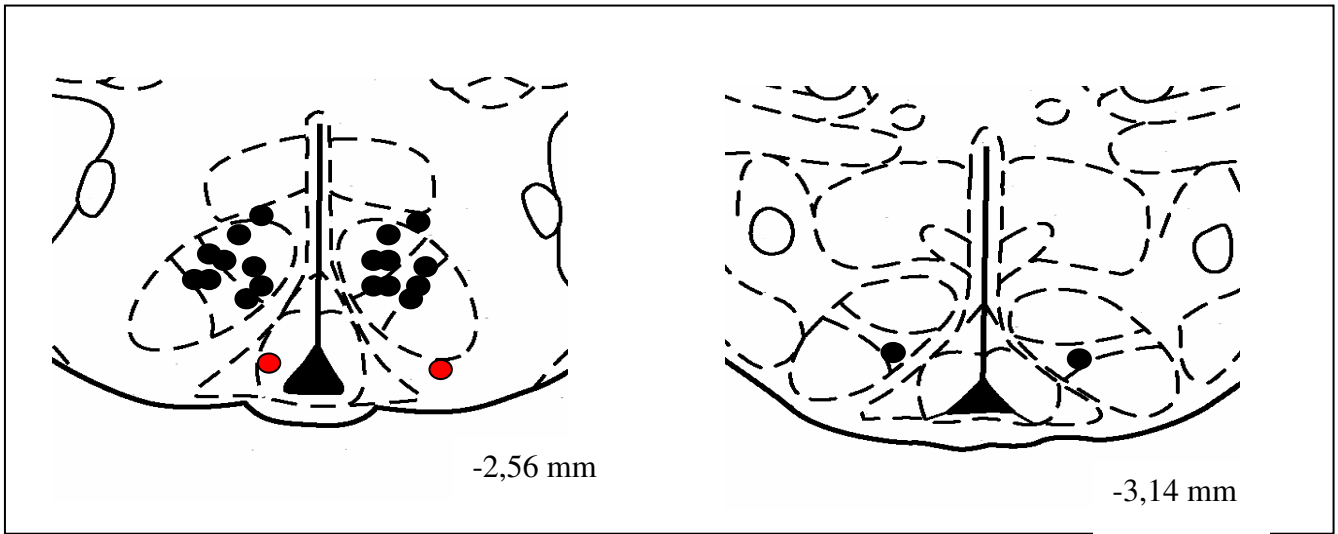


Figura 5: Esquemas de localização das cânulas de experimentos realizados a 5°C.

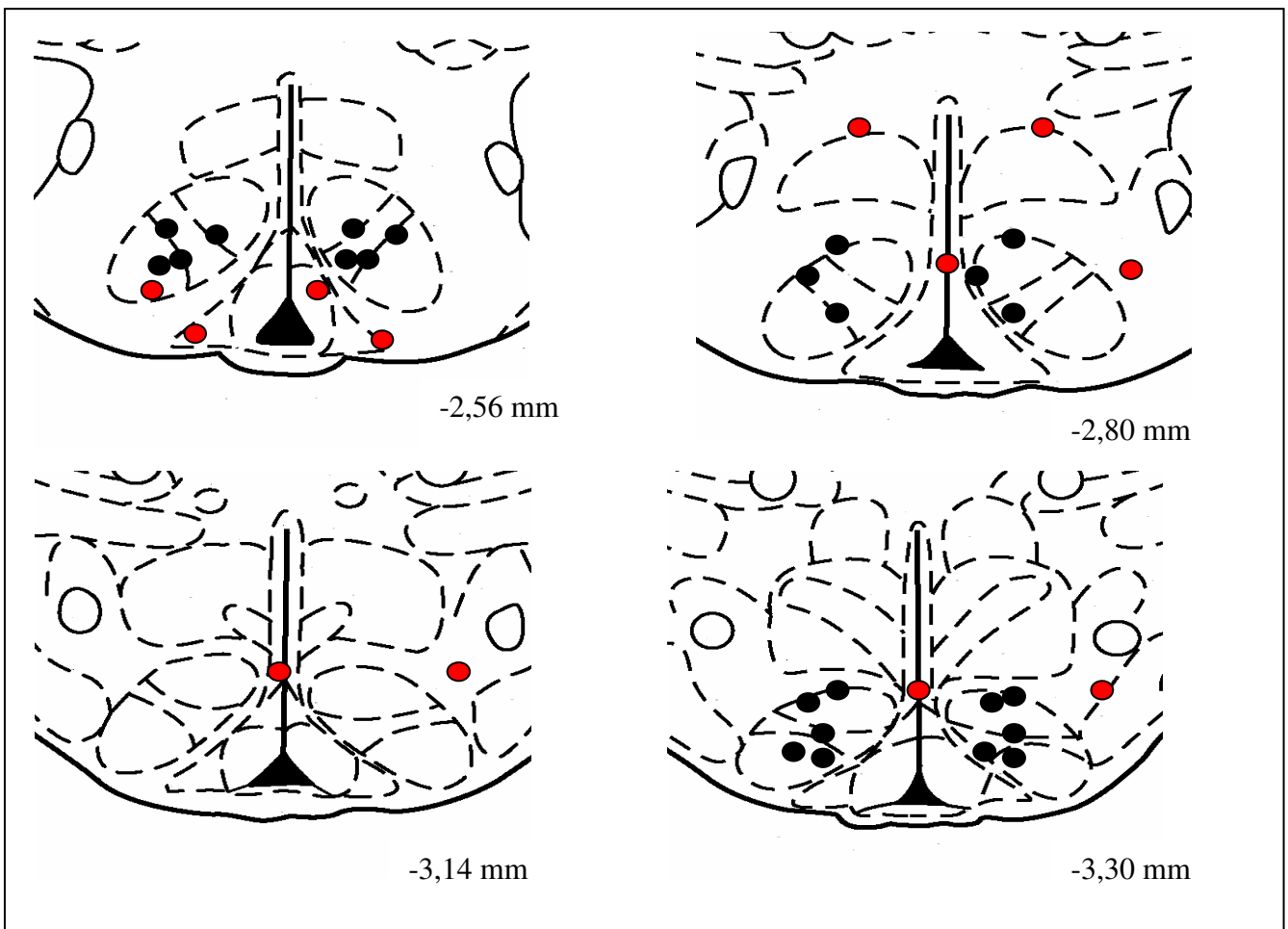


Figura 6: Esquemas de localização das cânulas de experimentos realizados a 12°C.

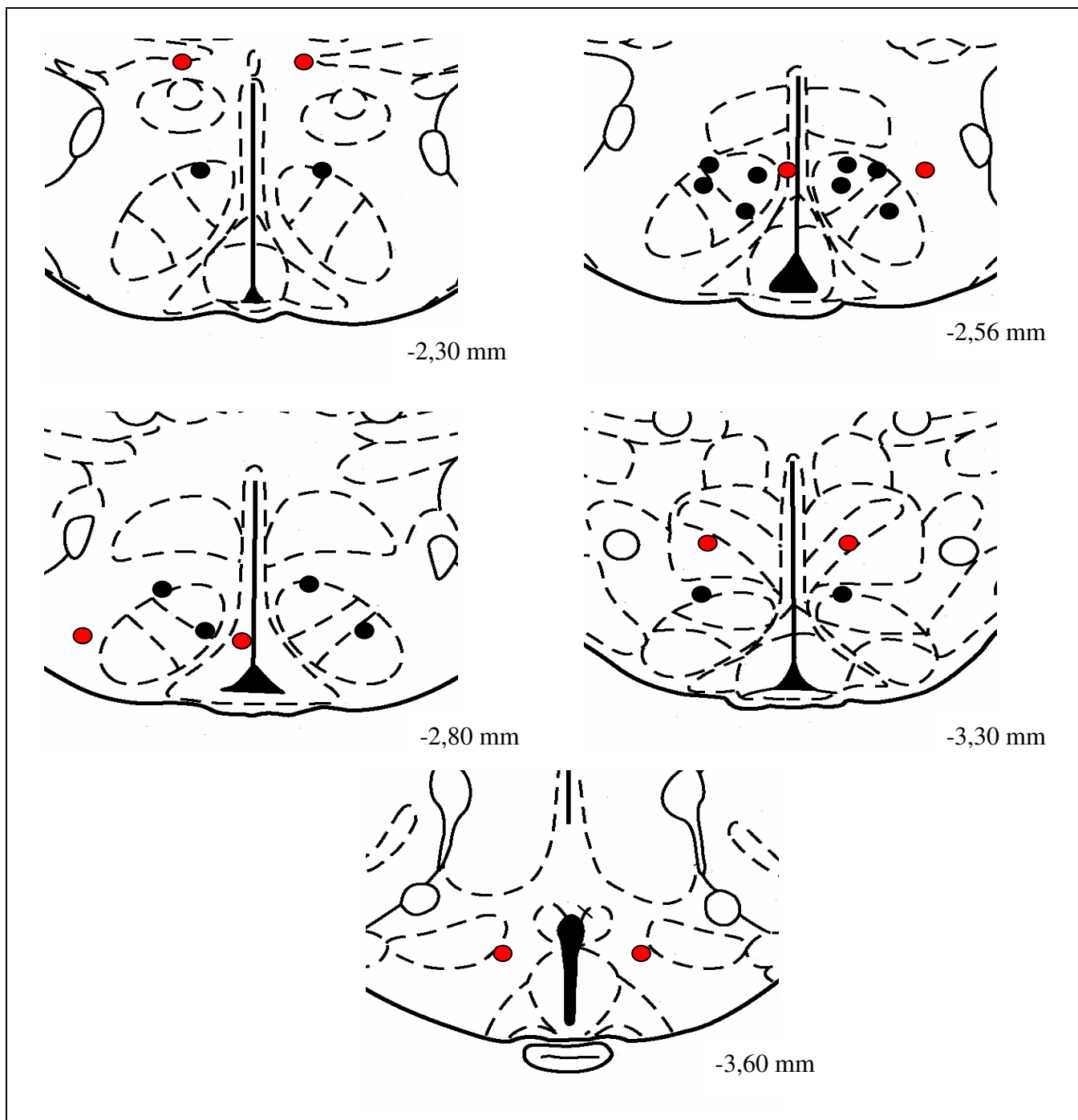


Figura 7: Esquemas de localização das cânulas de experimentos realizados a 15°C.

## 4.2.2- SITUAÇÃO: REPOUSO

### 4.2.2.1- Temperatura interna - Repouso

O gráfico 5.1 apresenta os valores médios da temperatura interna (A) e a variação da temperatura interna (B) dos animais após receberem injeção bilateral de salina (0,15 M) nos núcleos ventromediais do hipotálamo durante 1 hora de repouso a 5°C, 12°C e 15°C.

A variação da temperatura interna, durante o repouso, não foi diferente entre as diferentes temperaturas ambientes ( $0,84 \pm 0,24^{\circ}\text{C}$  a 5°C vs  $1,04 \pm 0,21^{\circ}\text{C}$  a 12°C vs  $0,52 \pm 0,28^{\circ}\text{C}$  a 15°C); (gráfico 5.1 - B).

Durante o repouso, a variação da temperatura interna aumentou a partir do 5º minuto de repouso nas três situações experimentais (5°C:  $0,17 \pm 0,11^{\circ}\text{C}$ ), (12°C:  $0,04 \pm 0,11^{\circ}\text{C}$ ), (15°C:  $0,16 \pm 0,18^{\circ}\text{C}$ ).

O gráfico 5.2 mostra os valores médios da temperatura interna dos animais que receberam 0,2 µL de salina (0,15 M) ou metilatropina ( $2,5 \times 10^{-2}$  M) nos núcleos ventromediais do hipotálamo durante 1 hora de repouso, a 5°C, 12°C e 15°C.

A temperatura interna aumentou durante o repouso a 5°C, a 12°C e a 15°C e permaneceu elevada nos ratos que receberam tanto a injeção salina quanto metilatropina nos VMH. A injeção de metilatropina não alterou a resposta da temperatura interna em nenhuma das situações experimentais comparado ao grupo controle. A temperatura interna aumentou a partir do 5º minuto nos grupos salina e metilatropina, em temperatura ambiente de 5°C ( $35,99 \pm 0,20^{\circ}\text{C}$  ao 0 minuto vs  $36,16 \pm 0,19^{\circ}\text{C}$  aos 5 minutos, SAL e  $36,17 \pm 0,24^{\circ}\text{C}$  ao 0 minuto vs  $36,34 \pm 0,21^{\circ}\text{C}$  aos 5 minutos, MATR;  $p < 0,05$ ). A 12°C, a temperatura interna aumentou a partir do 10º minuto no grupo salina e no metilatropina durante o repouso ( $37,26 \pm 0,21^{\circ}\text{C}$  ao 0 minuto vs  $37,52 \pm 0,27^{\circ}\text{C}$  aos 10 minutos, SAL e  $36,75 \pm 0,56^{\circ}\text{C}$  ao 0 minuto vs  $37,20 \pm 0,49^{\circ}\text{C}$  aos 10 minutos, MATR;  $p < 0,05$ ). A temperatura interna dos ratos aumentou no minuto 5 de repouso no grupo salina e no metilatropina, a 15°C ( $37,24 \pm 0,23^{\circ}\text{C}$  ao 0 minuto vs  $37,52 \pm 0,30^{\circ}\text{C}$  aos 5 minutos, SAL e  $36,91 \pm 0,25^{\circ}\text{C}$  ao 0 minuto vs  $37,11 \pm 0,28^{\circ}\text{C}$  aos 5 minutos, MATR;  $p < 0,05$ ).

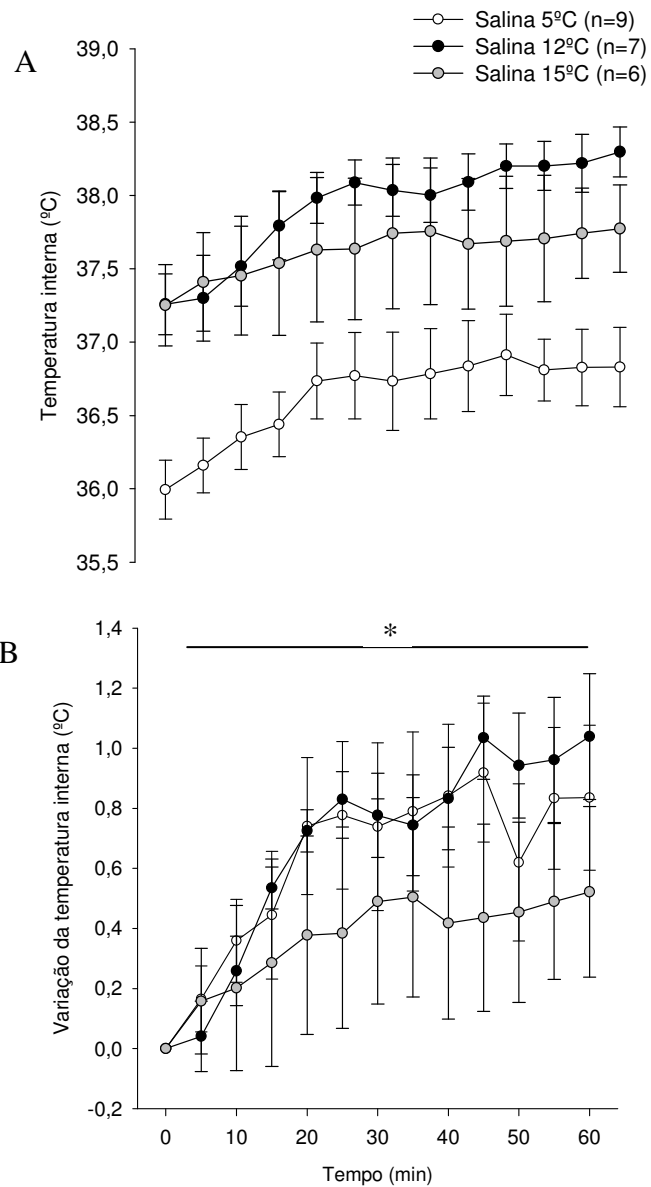


Gráfico 5.1: Temperatura interna (A) e variação da temperatura interna (B) dos animais injetados bilateralmente com 0,2 µL de salina (0,15 M) nos VMH durante 1 hora de repouso, a 5°C, 12°C e 15°C. Os dados expressam média ± EPM. \*  $p < 0,05$  comparado ao 0 minuto.



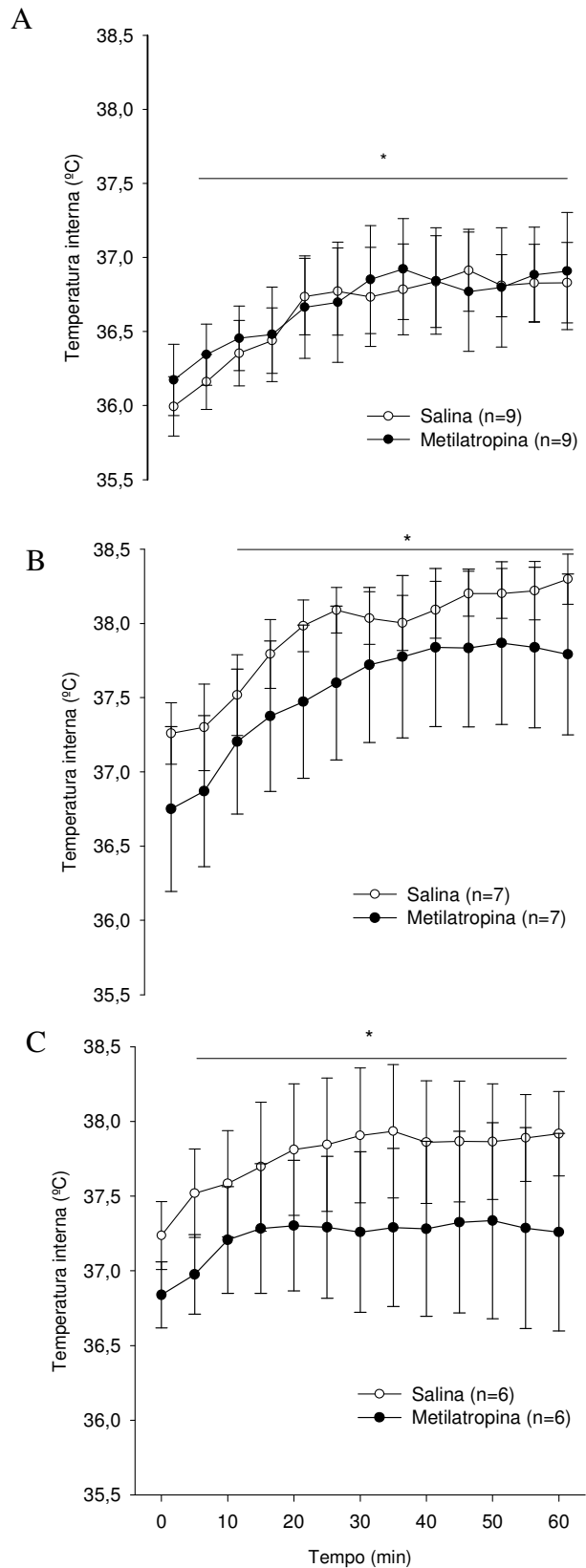


Gráfico 5.2: Efeito da injeção bilateral de 0,2µL de salina (0,15 M) ou de metilatropina ( $2,5 \times 10^{-2}$  M) nos VMH sobre a temperatura interna dos ratos, durante o repouso a 5°C (A), a 12°C (B) e a 15°C (C). Os dados expressam média ± EPM. \* = p<0,05 comparado ao 0 minuto.

#### 4.2.2.2- Temperatura da pele da cauda – Repouso

O gráfico 6.1 mostra a temperatura da pele da cauda dos animais após receberem injeção bilateral de 0,2 µL de salina 0,15 M nos núcleos ventromediais do hipotálamo durante 1 hora de repouso a 5°C, 12°C e 15°C. A temperatura da pele da cauda dos animais reduziu a partir do 2º minuto e permaneceu reduzida até o final dos 60 minutos de exposição às três diferentes temperaturas ambientes. A temperatura da pele da cauda dos animais a 15°C foi maior que a 12°C e a 5°C a partir do 2º minuto de repouso (Aos 2 minutos: 21,40 ± 0,63°C, 15°C vs 19,43 ± 0,19°C, 12°C vs 14,10 ± 1,42°C, 5°C) e permaneceu maior até o final da exposição (60 minutos: 16,70 ± 0,26°C, 15°C vs 13,86 ± 0,42°C, 12°C vs 7,53 ± 0,78°C, 5°C). Além disso, a temperatura da pele da cauda dos ratos foi maior a 12°C comparada a 5°C a partir do 2º minuto de exercício e permaneceu maior até o final da exposição.

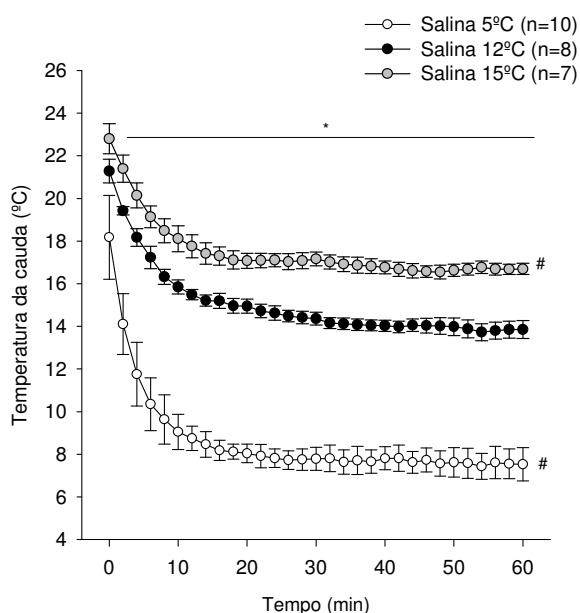


Gráfico 6.1: Temperatura da pele da cauda, em °C, dos animais com injeção bilateral de 0,2 µL de salina (0,15 M) nos VMH durante 1 hora de repouso a 5°C, 12°C e 15°C. # p<0,05 comparado a 12°C. Os dados expressam média ± EPM.

O gráfico 6.2 apresenta os valores médios da temperatura da pele da cauda de ratos após injeção bilateral de 0,2μL de salina (0,15 M) ou de metilatropina ( $2,5 \times 10^{-2}$  M) nos núcleos ventromediais do hipotálamo durante uma hora de repouso em ambiente de 5°C, 12°C e 15°C.

A temperatura da pele da cauda dos ratos reduziu durante o repouso a 5°C, 12°C e 15°C e permaneceu reduzida nos grupos salina e metilatropina até o final da exposição ao ambiente frio. A injeção de metilatropina não alterou a resposta da temperatura da pele da cauda em nenhuma das situações em comparação ao grupo controle (5°C: 18,18 ± 1,97°C, SAL ao 0 minuto vs 18,00 ± 0,59, MATR ao 0 minuto; 7,53 ± 0,78°C, SAL aos 60 minutos vs 7,71 ± 0,39°C, MATR aos 60 minutos); (12°C: 21,29 ± 0,56°C, SAL ao 0 minuto vs 21,49 ± 0,66, MATR ao 0 minuto; 13,86 ± 0,42°C, SAL aos 60 minutos vs 13,82 ± 0,44°C, MATR aos 60 minutos); (15°C: 22,81 ± 0,70°C, SAL ao 0 minuto vs 23,77 ± 0,72, MATR ao 0 minuto; 16,70 ± 0,26°C, SAL aos 60 minutos vs 16,71 ± 0,24°C, MATR aos 60 minutos).

A temperatura da pele da cauda reduziu a partir do 2º minuto nos grupos salina e metilatropina nos três ambientes (5°C: 18,18 ± 1,97°C ao 0 minuto vs 14,10 ± 1,43°C aos 2 minutos, SAL e 18,00 ± 0,59°C ao 0 minuto vs 13,42 ± 0,65°C aos 2 minutos, MATR; 12°C: 21,29 ± 0,56°C ao 0 minuto vs 19,43 ± 0,19°C aos 2 minutos, SAL e 21,49 ± 0,66°C ao 0 minuto vs 18,96 ± 0,48°C aos 2 minutos, MATR; 15°C: 22,81 ± 0,70°C ao 0 minuto vs 21,40 ± 0,64°C aos 2 minutos, SAL e 23,77 ± 0,72°C ao 0 minuto vs 21,92 ± 0,54°C aos 2 minutos, MATR).

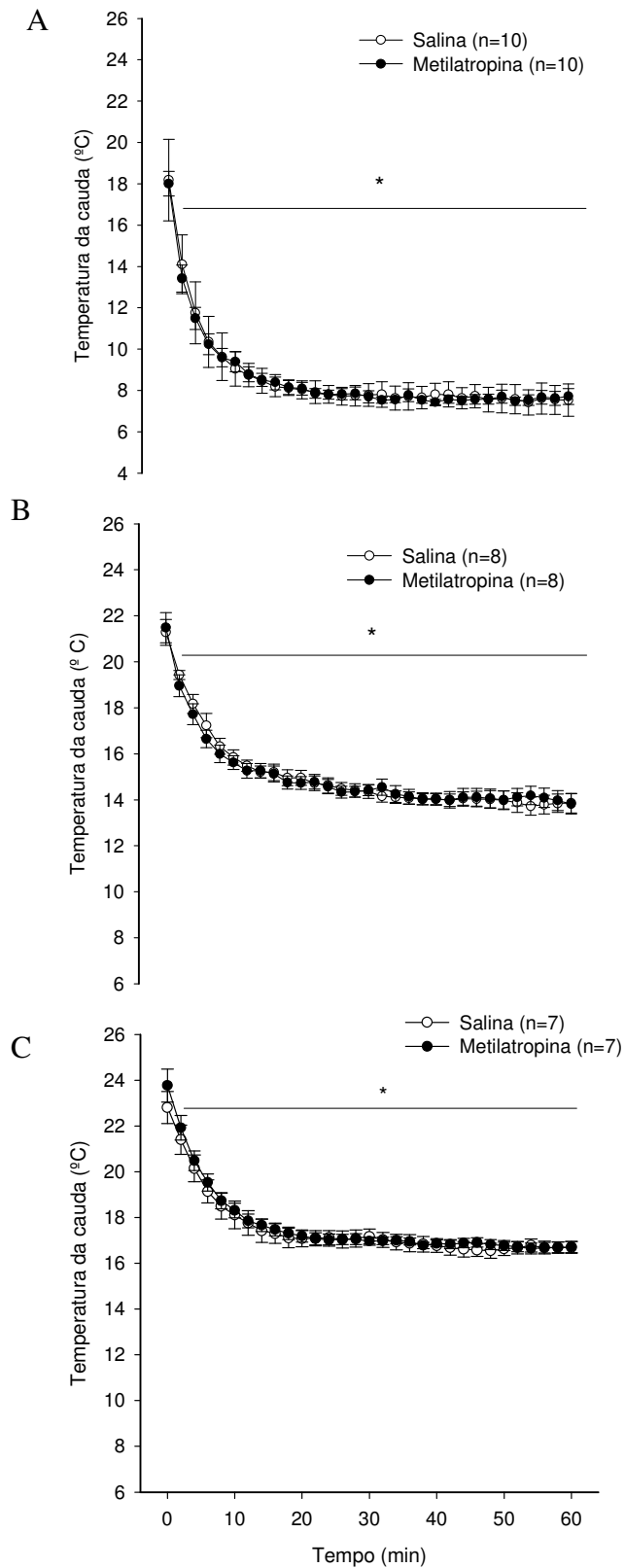


Gráfico 6.2: Efeito da injeção bilateral de 0,2 $\mu$ L de salina (0,15 M) ou de metilatropina ( $2,5 \times 10^{-2}$  M) nos VMH sobre a temperatura da pele da cauda dos ratos durante o repouso a 5° C (A), a 12° C (B) e a 15° C (C). Os dados expressam média  $\pm$  EPM. \* =  $p < 0,05$  comparado ao 0 minuto.

## 4.2.3- SITUAÇÃO: EXERCÍCIO FÍSICO

### 4.2.3.1- Tempo total de exercício

Os gráficos 7.1, 7.2 e 7.3 apresentam os valores médios do tempo total de exercício, após a injeção de 0,2  $\mu\text{L}$  de salina (0,15M) ou metilatropina ( $2,5 \times 10^{-2}$  M), a 5°C, 12°C e 15°C, respectivamente.

A injeção de metilatropina realizada bilateralmente nos VMH antecipou o momento da fadiga em 37,42% ( $p=0,0004$ ), a 5°C. Os ratos controles correram  $53,76 \pm 6,71$  minutos, enquanto os ratos que receberam a injeção de metilatropina correram  $33,64 \pm 4,58$  minutos, a 5°C (gráfico 7.1).

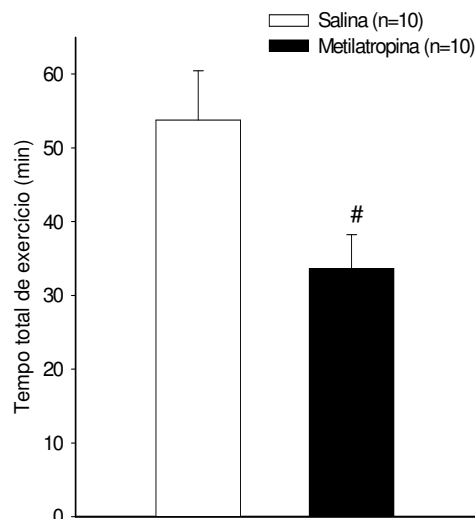


Gráfico 7.1: Efeito da injeção bilateral 0,2 $\mu\text{L}$  de salina (0,15 M) ou de metilatropina ( $2,5 \times 10^{-2}$  M) nos núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre o tempo total de exercício de ratos, a 5°C. Os dados expressam média  $\pm$  EPM. # =  $p < 0,05$  comparado ao grupo salina.

A injeção bilateral de metilatropina nos VMH antecipou o momento da fadiga em 36,07% ( $p=0,001$ ) em temperatura ambiente de 12°C. Os animais salina correram  $49,34 \pm 3,79$  minutos, enquanto os animais metilatropina correram  $31,54 \pm 2,82$  minutos (gráfico 7.2).

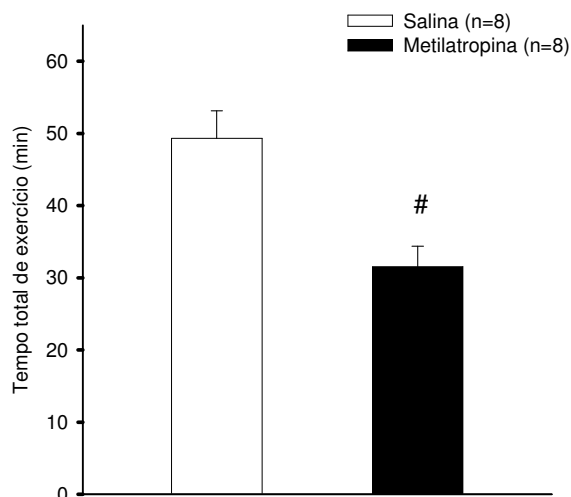


Gráfico 7.2: Efeito da injeção bilateral 0,2μL de salina (0,15 M) ou de metilotropina ( $2,5 \times 10^{-2}$  M) nos núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre o tempo total de exercício de ratos, a 12°C. Os dados expressam média  $\pm$  EPM. # =  $p < 0,05$  comparado ao grupo salina.

A injeção de metilotropina reduziu o tempo total de exercício no grupo metilotropina em 34,69% ( $p=0,002$ ), em temperatura ambiente de 15°C. Os ratos que receberam injeção salina nos VMH correram  $50,72 \pm 4,68$  minutos, enquanto os animais injetados com metilotropina correram  $35,18 \pm 3,64$  minutos, a 15°C (gráfico 7.3).

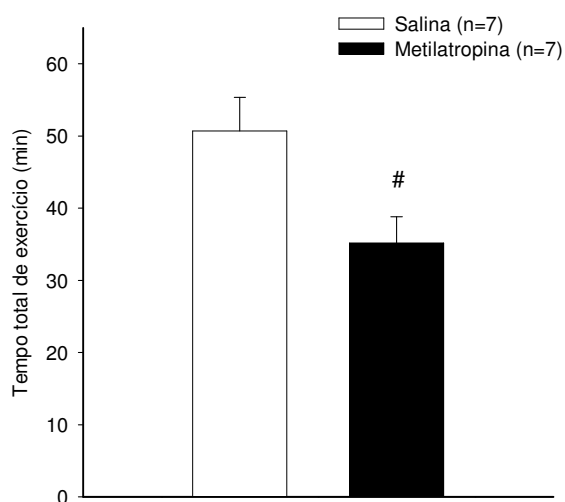


Gráfico 7.3: Efeito da injeção bilateral 0,2μL de salina (0,15 M) ou de metilotropina ( $2,5 \times 10^{-2}$  M) nos núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre o tempo total de exercício de ratos, a 15°C. Os dados expressam média  $\pm$  EPM. # =  $p < 0,05$  comparado ao grupo salina.

Nos animais em que as cânulas guias foram colocadas fora dos VMH, a injeção de metilatropina não alterou o desempenho dos ratos a 12°C ( $41,76 \pm 8,85$  minutos, SAL e  $39,64 \pm 5,14$  minutos, MATR;  $n=6$ ;  $p=0,82$ ), nem a 15°C ( $56,87 \pm 6,58$  minutos, SAL e  $57,03 \pm 10,08$  minutos, MATR;  $n=9$ ;  $p=0,86$ ), (gráfico 7.4).

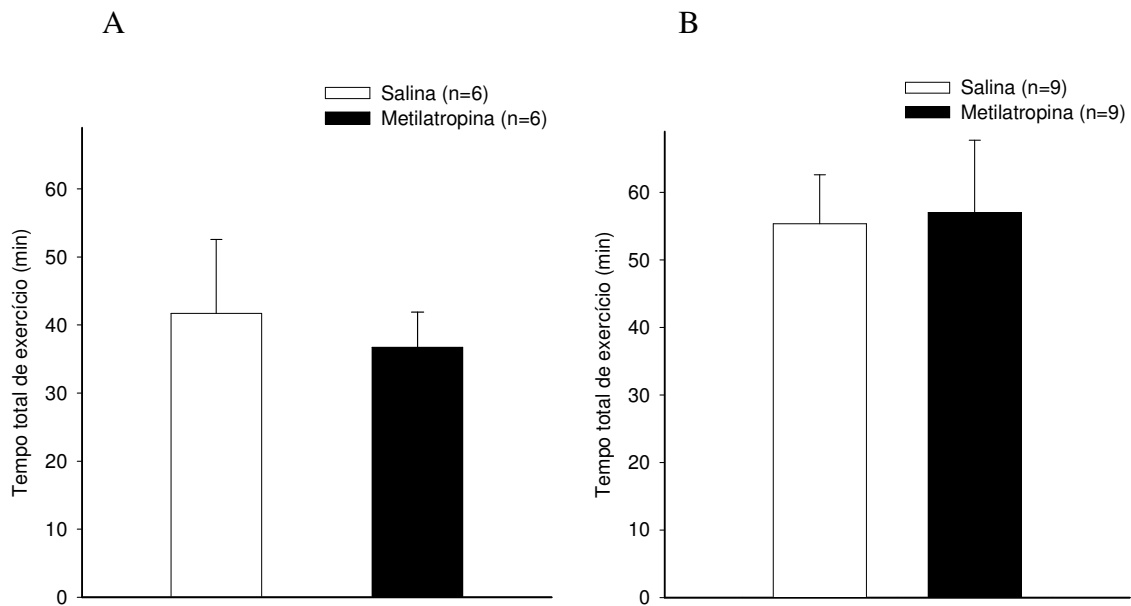


Gráfico 7.4: Efeito da injeção bilateral 0,2µL de salina (0,15 M) ou de metilatropina ( $2,5 \times 10^{-2}$  M) fora dos núcleos ventromediais hipotalâmicos sobre o tempo total de exercício em ratos, a 12°C (A) e a 15°C (B). Os dados expressam média  $\pm$  EPM.

Não foi possível realizar a análise estatística referente ao valor do tempo total de exercício dos animais que receberam injeção de 0,2 µL de salina (0,15 M) ou de metilatropina ( $2,5 \times 10^{-2}$  M) fora dos núcleos ventromediais hipotalâmicos, a 5°C, devido ao número de animais ser igual a um ( $n=1$ ).

Tabela 2: Tempo total de exercício no delineamento experimental 2.

	VMH (5°C)	VMH (12°C)	VMH (15°C)	Fora VMH (12°C)	Fora VMH (15°C)
<b>Salina (min)</b>	53,76 ± 6,71	49,34 ± 3,79	50,72 ± 4,68	41,76 ± 8,85	56,87 ± 6,58
<b>Metilatropina (min)</b>	33,64 ± 4,58 *	31,54 ± 2,82 *	35,18 ± 3,64 *	39,64 ± 5,14	57,03 ± 10,0
<b>Redução (%)</b>	37,42	36,07	34,69	5,07	--

Os dados expressam média ± EPM. \*  $p < 0,05$  comparado ao grupo salina.

#### 4.2.3.2- Temperatura interna – Exercício

Os gráficos 8.1, 8.2 e 8.3 apresentam os valores médios da temperatura interna de ratos durante o exercício físico, após injeção bilateral de 0,2µL de salina (0,15 M) ou de metilatropina ( $2,5 \times 10^{-2}$  M) nos núcleos ventromediais do hipotálamo a 5°C, 12°C e 15°C, respectivamente.

A 5°C, a temperatura interna dos ratos reduziu a partir do 14º minuto no grupo salina e a partir do 12º minuto no grupo metilatropina ( $36,00 \pm 0,25^\circ\text{C}$  ao 0 minuto vs  $35,54 \pm 0,32^\circ\text{C}$  aos 14 minutos, SAL;  $36,16 \pm 0,11^\circ\text{C}$  ao 0 minuto vs  $35,79 \pm 0,31^\circ\text{C}$  aos 12 minutos, MATR); (gráfico 8.1). A temperatura interna dos ratos salina e metilatropina permaneceu reduzida até a fadiga. Não houve diferença entre a temperatura interna dos ratos após injeção de metilatropina nos VMH em comparação ao grupo salina (0 minuto:  $36,00 \pm 0,25^\circ\text{C}$ , SAL vs  $36,16 \pm 0,11^\circ\text{C}$ , MATR; fadiga:  $34,85 \pm 0,30^\circ\text{C}$ , SAL vs  $35,49 \pm 0,34^\circ\text{C}$ , MATR).

Em temperatura ambiente de 12°C, a temperatura interna de ratos após injeção bilateral de 0,2µL de salina (0,15 M) ou de metilatropina ( $2,5 \times 10^{-2}$  M) nos núcleos ventromediais do hipotálamo não foi diferente até a fadiga em comparação ao minuto 0 ( $37,11 \pm 0,27^\circ\text{C}$  ao 0 minuto vs  $37,28 \pm 0,28^\circ\text{C}$  na fadiga, SAL;  $37,15 \pm 0,28^\circ\text{C}$  ao 0 minuto vs  $37,40 \pm 0,37^\circ\text{C}$  na fadiga, MATR); (gráfico 8.2). A temperatura interna do grupo metilatropina não foi diferente do grupo salina (0 minuto:  $37,11 \pm 0,27^\circ\text{C}$ , SAL vs  $37,15 \pm 0,28^\circ\text{C}$ , MATR; fadiga:  $37,28 \pm 0,28^\circ\text{C}$ , SAL vs  $37,40 \pm 0,37^\circ\text{C}$ , MATR).

A 15°C (gráfico 8.3), a temperatura interna dos ratos aumentou após o 8º minuto no grupo salina e após o 14º minuto no grupo metilatropina ( $36,77 \pm 0,24^\circ\text{C}$  ao 0 minuto



vs  $36,84 \pm 0,39^{\circ}\text{C}$  aos 8 minutos, SAL;  $36,74 \pm 0,35^{\circ}\text{C}$  ao 0 minuto vs  $36,94 \pm 0,42^{\circ}\text{C}$  aos 14 minutos, MATR). A injeção bilateral de metilatropina ( $2,5 \times 10^{-2}$  M) nos núcleos ventromediais do hipotálamo não alterou a temperatura interna em comparação ao grupo salina até a fadiga (fadiga:  $37,34 \pm 0,42^{\circ}\text{C}$ , SAL vs  $37,08 \pm 0,43^{\circ}\text{C}$ , MATR).

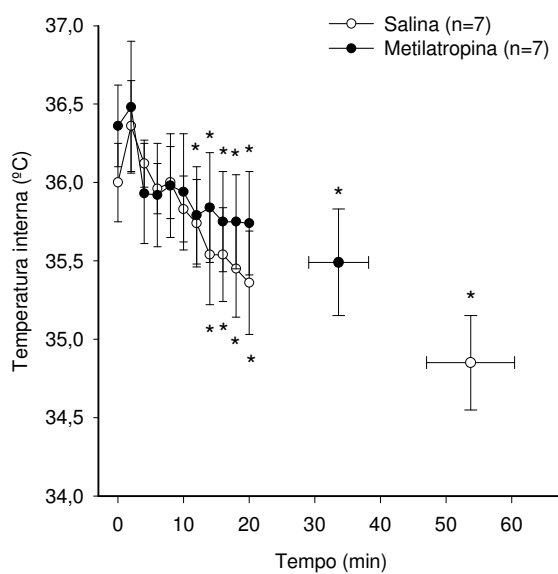


Gráfico 8.1: Efeito da injeção bilateral de  $0,2\mu\text{L}$  de salina ( $0,15$  M) ou de metilatropina ( $2,5 \times 10^{-2}$  M) nos núcleos ventromediais do hipotálamo durante o exercício, sobre a temperatura interna dos ratos, a  $5^{\circ}$  C. Os dados expressam média  $\pm$  EPM. \* =  $p < 0,05$  comparado ao 0 minuto.

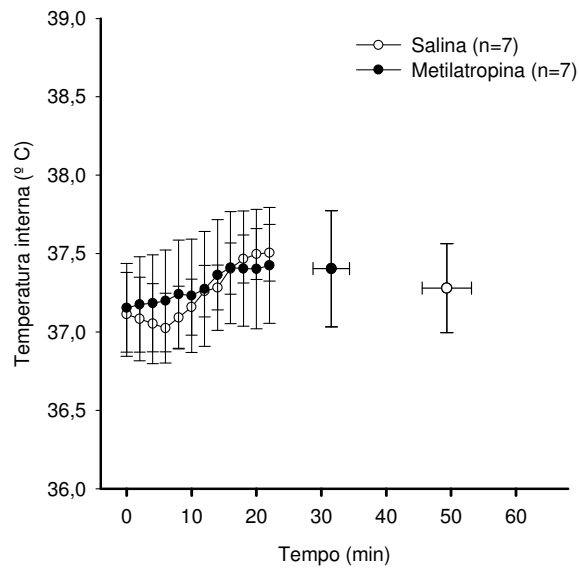


Gráfico 8.2: Efeito da injeção bilateral de 0,2µL de salina (0,15 M) ou de metilatropina (2,5x10<sup>-2</sup> M) nos núcleos ventromediais do hipotálamo durante o exercício, sobre a temperatura interna dos ratos, a 12º C. Os dados expressam média ± EPM.

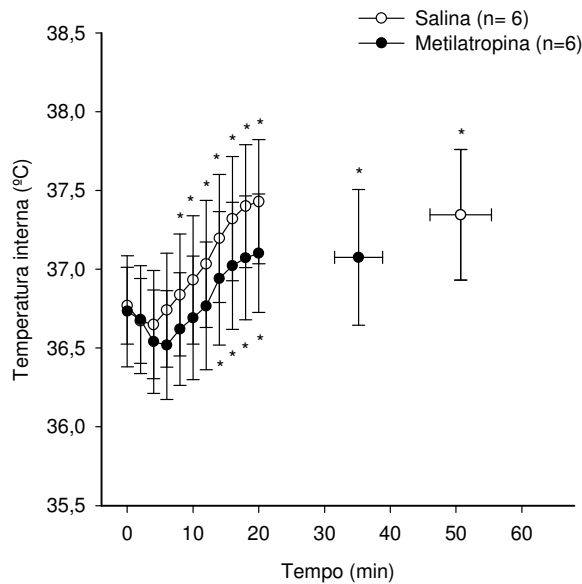


Gráfico 8.3: Efeito da injeção bilateral de 0,2µL de salina (0,15 M) ou de metilatropina (2,5x10<sup>-2</sup> M) nos núcleos ventromediais do hipotálamo durante o exercício, sobre a temperatura interna dos ratos, a 15º C. Os dados expressam média ± EPM. \* = p<0,05 comparado ao 0 minuto.

#### 4.2.3.3- Temperatura da pele da cauda – Exercício

Os gráficos 9.1, 9.2 e 9.3 apresentam os valores médios das temperaturas da pele da cauda dos ratos, após injeção bilateral de 0,2μL de salina (0,15 M) ou de metilatropina ( $2,5 \times 10^{-2}$  M) nos núcleos ventromediais do hipotálamo durante o exercício físico a 5°C, 12°C e 15°C, respectivamente.

A temperatura da pele da cauda dos ratos reduziu após o 2º minuto de exercício nas três temperaturas ambientes e permaneceu reduzida até a fadiga nos grupos salina e metilatropina (5°C:  $18,80 \pm 0,46^\circ\text{C}$  ao 0 minuto vs  $14,36 \pm 0,35^\circ\text{C}$  aos 2 minutos, SAL;  $18,39 \pm 0,29^\circ\text{C}$  ao 0 minuto vs  $14,62 \pm 0,58^\circ\text{C}$  aos 2 minutos, MATR); (12°C:  $21,16 \pm 0,38^\circ\text{C}$  ao 0 minuto vs  $19,28 \pm 0,26^\circ\text{C}$  aos 2 minutos, SAL;  $22,08 \pm 0,47^\circ\text{C}$  ao 0 minuto vs  $19,31 \pm 0,29^\circ\text{C}$  aos 2 minutos, MATR); (15°C:  $23,24 \pm 0,50^\circ\text{C}$  ao 0 minuto vs  $21,96 \pm 0,47^\circ\text{C}$  aos 2 minutos, SAL;  $23,18 \pm 0,35^\circ\text{C}$  ao 0 minuto vs  $21,72 \pm 0,50^\circ\text{C}$  aos 2 minutos, MATR). A injeção de metilatropina ( $2,5 \times 10^{-2}$  M) nos núcleos ventromediais do hipotálamo não alterou a temperatura da pele da cauda em comparação aos animais salina em ambiente de 5°C ( $8,45 \pm 0,24^\circ\text{C}$ , SAL vs  $8,51 \pm 0,31^\circ\text{C}$ , MATR; fadiga); 12°C ( $15,10 \pm 0,38^\circ\text{C}$ , SAL vs  $15,00 \pm 0,33^\circ\text{C}$ , MATR; fadiga); e 15°C ( $19,12 \pm 1,15^\circ\text{C}$ , SAL vs  $18,39 \pm 0,53^\circ\text{C}$ , MATR; fadiga).

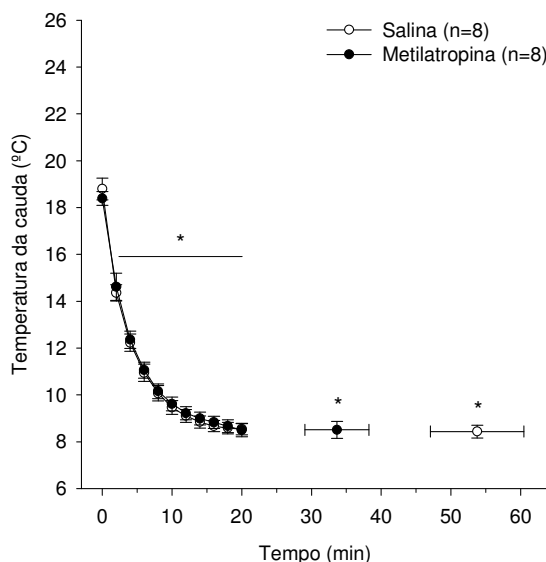


Gráfico 9.1: Efeito da injeção bilateral de 0,2μL de salina (0,15 M) ou de metilatropina ( $2,5 \times 10^{-2}$  M) nos núcleos ventromediais do hipotálamo durante o exercício, sobre a temperatura da pele da cauda dos ratos, a 5°C. Os dados expressam média ± EPM. \* =  $p < 0,05$  comparado ao 0 minuto.

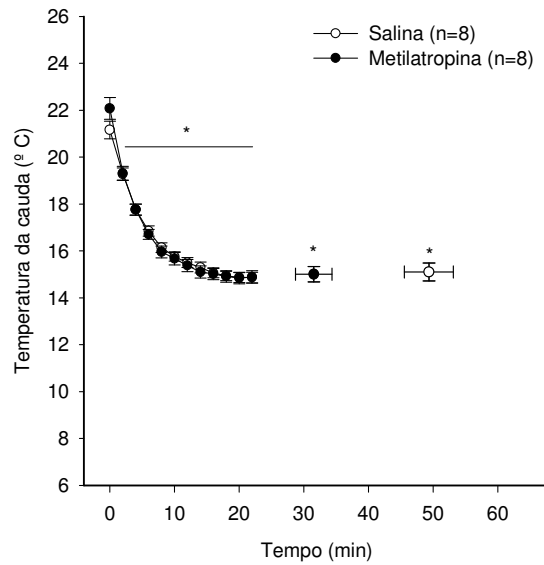


Gráfico 9.2: Efeito da injeção bilateral de 0,2µL de salina (0,15 M) ou de metilatropina ( $2,5 \times 10^{-2}$  M) nos núcleos ventromediais do hipotálamo durante o exercício, sobre a temperatura da pele da cauda dos ratos, a 12°C. Os dados expressam média  $\pm$  EPM. \* =  $p < 0,05$  comparado ao 0 minuto.

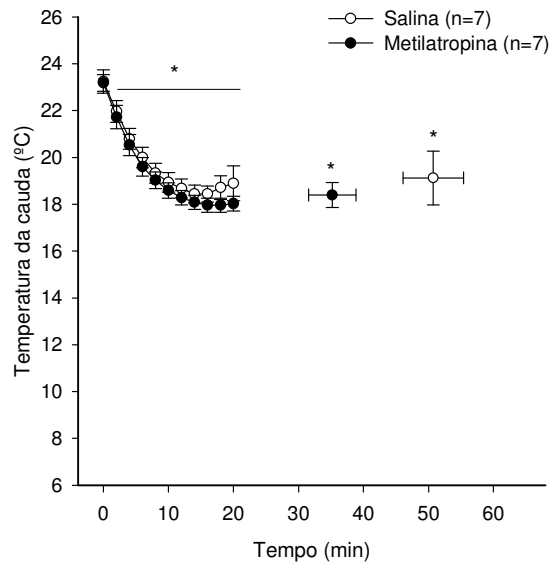


Gráfico 9.3: Efeito da injeção bilateral de 0,2µL de salina (0,15 M) ou de metilatropina ( $2,5 \times 10^{-2}$  M) nos núcleos ventromediais do hipotálamo durante o exercício, sobre a temperatura da pele da cauda dos ratos, a 15°C. Os dados expressam média  $\pm$  EPM. \* =  $p < 0,05$  comparado ao 0 minuto.

#### 4.2.3.4- Variação de calor e taxa de variação de calor - Exercício

O gráfico 10.1 apresenta os valores médios da variação de calor durante o exercício após a injeção de salina (0,15M) ou metilatropina ( $2,5 \times 10^{-2}M$ ), a 5°C, 12°C e 15°C.

A 5°C, a variação de calor dos ratos foi negativa tanto no grupo salina quanto no metilatropina. Os animais que receberam injeção salina nos VMH apresentaram variação de calor de  $-287,61 \pm 52,27$  cal e os metilatropina de  $-155,15 \pm 59,10$  cal. Os valores de variação de calor não foram diferentes entre os grupos salina e metilatropina, a 5°C ( $p=0,10$ ).

A variação de calor dos ratos em temperatura ambiente de 12°C foi positiva nos grupos salina e metilatropina. Os animais que receberam injeção salina nos VMH acumularam  $45,60 \pm 82,41$  cal e os animais metilatropina armazenaram  $58,36 \pm 69,01$  cal. Os valores de variação de calor não foram diferentes entre os grupos salina e metilatropina, a 12°C ( $p=0,88$ ).

Nos ratos em exercício físico, a 15°C de temperatura ambiente, a variação de calor foi positiva nos grupos salina e metilatropina. O grupo salina acumulou  $160,30 \pm 75,39$  cal e os animais metilatropina armazenaram  $101,12 \pm 103,17$  cal. A injeção de metilatropina realizada bilateralmente nos VMH não modificou a variação de calor em comparação ao grupo salina ( $p=0,58$ ).

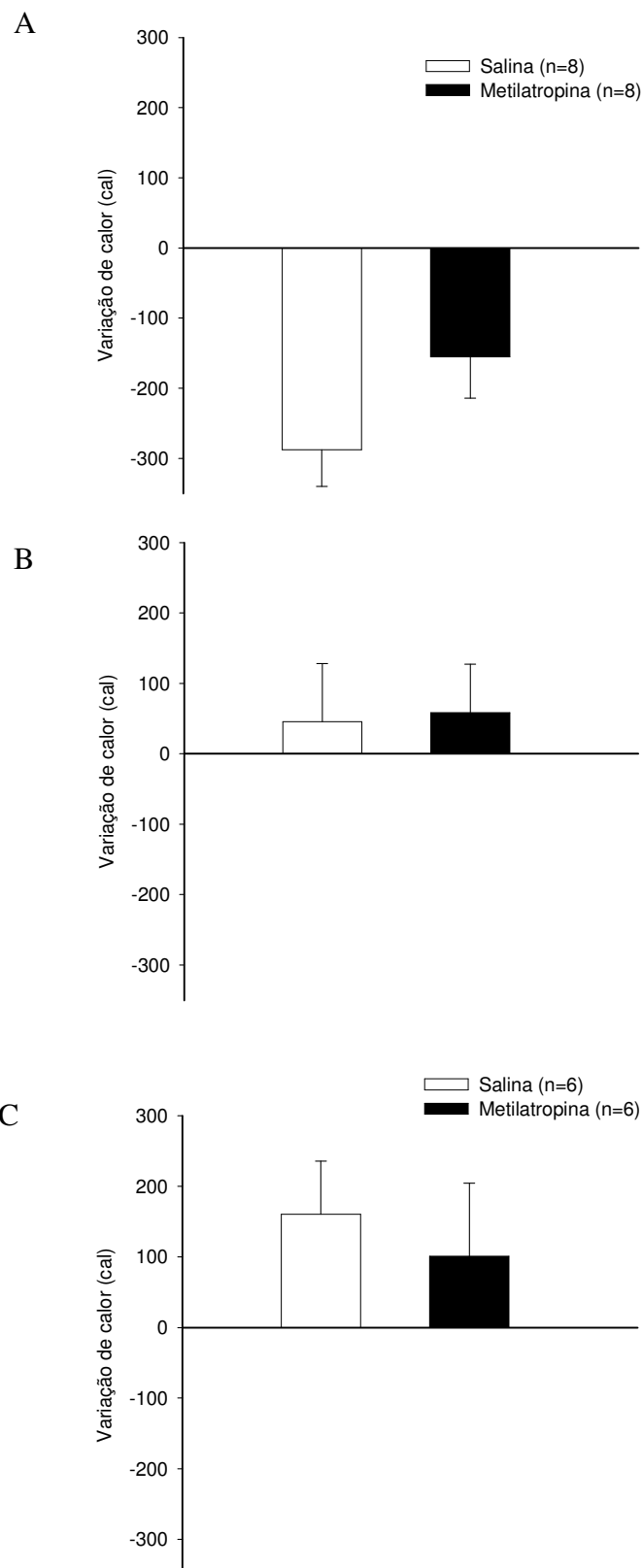


Gráfico 10.1: Efeito da injeção bilateral de 0,2 $\mu$ L de salina (0,15 M) ou de metilatropina ( $2,5 \times 10^{-2}$  M) nos núcleos ventromediais do hipotálamo, durante o exercício, sobre a variação de calor dos ratos, a 5°C (A), 12°C (B) e 15°C (C). Os dados expressam média  $\pm$  EPM.

O gráfico 10.2 apresenta os valores médios da taxa de variação de calor calculada no intervalo entre o início do exercício e o momento da fadiga, após a injeção de salina (0,15M) ou metilatropina ( $2,5 \times 10^{-2}$ M), a 5°C, 12°C e 15°C.

A taxa de variação de calor dos ratos foi negativa nos grupos salina e metilatropina durante o exercício físico, a 5°C. Os animais que receberam injeção salina nos VMH apresentaram uma taxa de variação de calor de  $-6,01 \pm 1,67$  cal/min e os injetados com metilatropina de  $-4,51 \pm 1,62$  cal/min. Os valores da taxa de calor não foram diferentes entre os grupos; ( $p=0,37$ ).

Durante o exercício físico até a fadiga em temperatura ambiente de 12 °C, a taxa de variação de calor foi igual a zero ( $0,80 \pm 1,66$  cal/min) para o grupo salina. Esse valor corrobora com o valor de taxa de variação de calor encontrado nos ratos intactos em exercício a 12°C ( $0,13 \pm 0,79$  cal/min nos ratos intactos vs  $0,80 \pm 1,66$  cal/min no grupo salina;  $p=0,70$ ). Os animais que receberam injeção de metilatropina ( $2,5 \times 10^{-2}$  M) apresentaram uma taxa de variação de calor de  $1,88 \pm 2,18$  cal/min. Os valores da taxa de variação de calor não foram diferentes entre os grupos salina e metilatropina, a 12°C ( $p=0,60$ ).

Nos ratos em exercício físico, a 15°C de temperatura ambiente, a taxa de variação de calor foi positiva nos grupos salina e metilatropina. O grupo salina apresentou taxa de variação de calor de  $3,36 \pm 1,81$  cal/min e o metilatropina de  $2,19 \pm 3,07$  cal/min. A injeção de metilatropina realizada bilateralmente nos VMH não modificou a taxa de variação de calor em comparação ao grupo salina ( $p=0,71$ ).

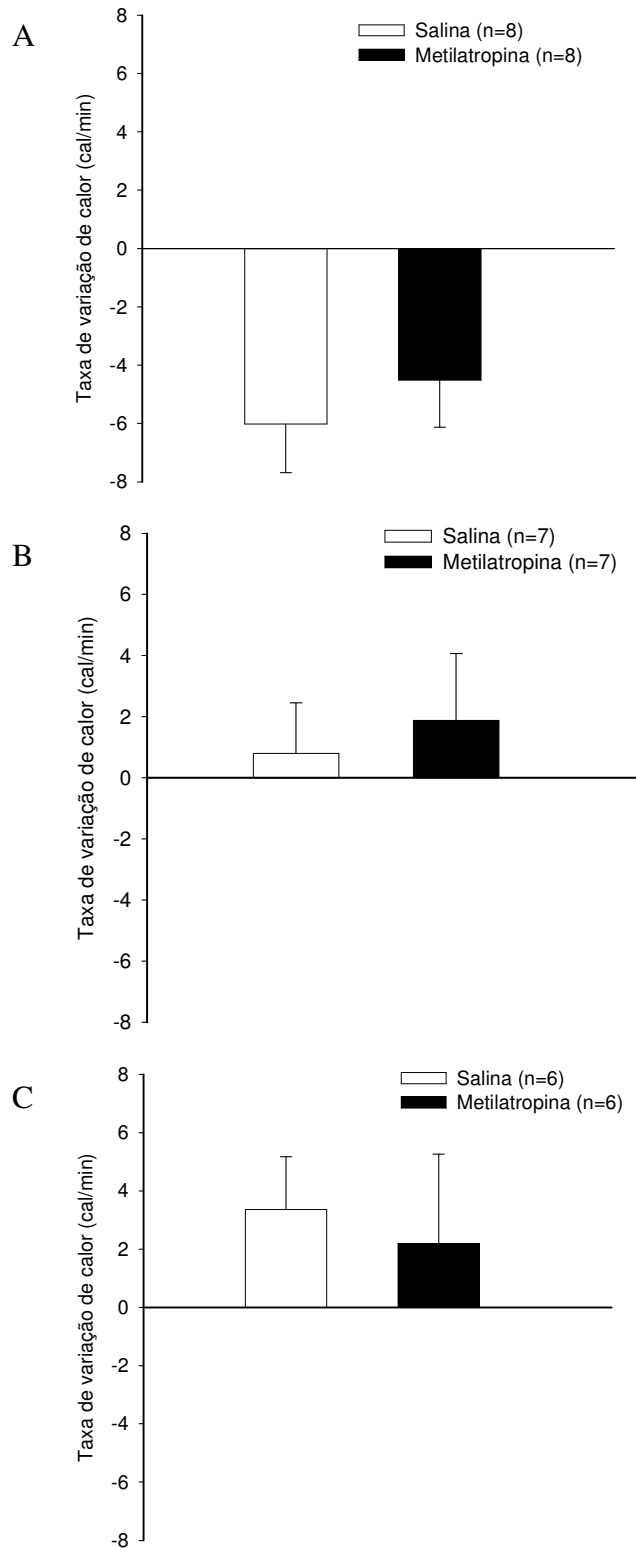


Gráfico 10.2: Efeito da injeção bilateral de 0,2 $\mu$ L de salina (0,15 M) ou de metilatropina (2,5 $\times 10^{-2}$  M) nos núcleos ventromediais do hipotálamo durante o exercício, sobre a taxa de variação de calor dos ratos, a 5°C (A), 12°C (B) e 15°C (C). Os dados expressam média  $\pm$  EPM.



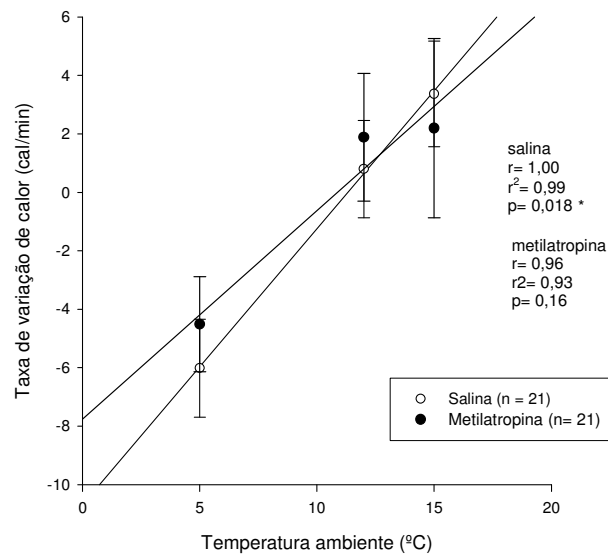


Gráfico 10.3: Correlação entre taxa de variação de calor (cal/min) e temperatura ambiente (°C) dos ratos que receberam injeção 0,2 µL de salina (0,15 M) ou metilatropina ( $2,5 \times 10^{-2}$  M).

O gráfico 10.3 apresenta a correlação positiva entre a taxa de variação de calor (cal/min) com a temperatura ambiente (°C) nos ratos que receberam injeção de salina ( $r=1,00$ ,  $p= 0,018$ ). Nos animais que receberam metilatropina a correlação entre a taxa de variação de calor e a temperatura ambiente foi de  $r= 0,96$  ( $p=0,16$ ).

#### 4.2.3.5- Índice de dissipação de calor – Exercício

O gráfico 11.1 apresenta os valores médios dos índices de dissipação de calor durante o exercício físico até a fadiga, após a injeção de 0,2 µL de salina (0,15M) ou metilatropina ( $2,5 \times 10^{-2}$  M) nos VMH, a 5°C (A), 12°C (B) e 15°C (C), respectivamente.

O gráfico 11.1 (A) mostra que o índice de dissipação de calor reduziu em ambos os grupos a partir do 2º minuto de exercício e permaneceu reduzido até a fadiga ( $0,43 \pm 0,04$  ao 0 minuto vs  $0,27 \pm 0,03$  aos 2 minutos, SAL;  $0,41 \pm 0,03$  ao 0 minuto vs  $0,28 \pm 0,06$  aos 2 minutos, MATR;  $p < 0,05$ ) em temperatura ambiente de 5°C. A injeção de metilatropina nos VMH não alterou o índice de dissipação de calor até o momento da

fadiga em comparação ao grupo salina em ambiente de 5°C (0 minuto:  $0,43 \pm 0,04$ , SAL vs  $0,41 \pm 0,03$ , MATR; fadiga:  $0,04 \pm 0,01$ , SAL vs  $0,04 \pm 0,02$ , MATR).

O gráfico 11.1 (B) apresenta os valores do índice de dissipação de calor dos ratos salina e metilatropina durante o exercício físico até a fadiga, a 12°C. O índice de dissipação de calor reduziu a partir do 2º minuto nos grupos salina ( $0,36 \pm 0,02$  ao 0 minuto vs  $0,26 \pm 0,01$  aos 2 minutos) e no metilatropina ( $0,41 \pm 0,03$  ao 0 minuto vs  $0,28 \pm 0,01$  aos 2 minutos). O índice de dissipação de calor não foi diferente nos ratos que receberam injeção de metilatropina nos VMH até o momento da fadiga em comparação ao grupo salina, em temperatura ambiente de 12°C (0 minuto:  $0,36 \pm 0,02$ , SAL vs  $0,41 \pm 0,03$ , MATR; fadiga:  $0,08 \pm 0,01$ , SAL vs  $0,07 \pm 0,01$ , MATR).

O gráfico 11.1 (C) apresenta os valores do índice de dissipação de calor dos ratos salina e metilatropina durante o exercício físico até a fadiga, a 15°C. O índice de dissipação de calor reduziu a partir do 2º minuto no grupo salina ( $0,38 \pm 0,02$  ao 0 minuto vs  $0,31 \pm 0,02$  aos 2 minutos) e no metilatropina ( $0,36 \pm 0,02$  ao 0 minuto vs  $0,29 \pm 0,03$  aos 2 minutos)  $p < 0,05$ . O índice de dissipação de calor não foi diferente nos ratos que receberam injeção de metilatropina nos VMH até o momento da fadiga em comparação ao grupo salina, em temperatura ambiente de 15°C (0 minuto:  $0,38 \pm 0,02$ , SAL vs  $0,36 \pm 0,02$ , MATR; fadiga:  $0,12 \pm 0,04$ , SAL vs  $0,14 \pm 0,03$ , MATR).

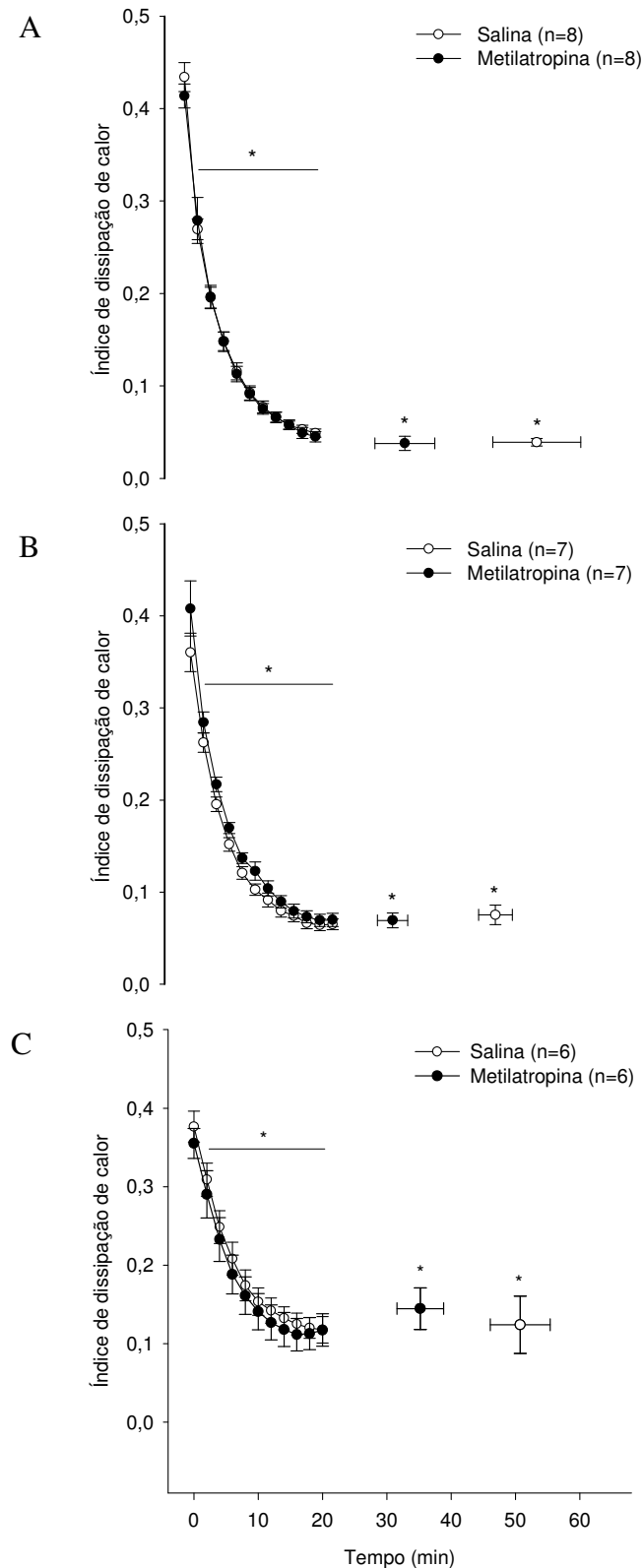


Gráfico 11.1: Efeito da injeção bilateral de 0,2 $\mu$ L de salina (0,15 M) ou de metilalotropina ( $2,5 \times 10^{-2}$  M) nos núcleos ventromediais do hipotálamo sobre o índice de dissipação de calor de ratos durante o exercício físico até a fadiga a 5°C (A), 12°C (B) e a 15 °C (C). Os dados expressam média  $\pm$  EPM. \* =  $p < 0,05$  comparado ao 0 minuto.

Conforme apresentado no gráfico 11.2, o índice de dissipação de calor não se correlacionou com a temperatura ambiente (°C) nos ratos que receberam injeção de salina ( $r=0,95$ ,  $p= 0,19$ ) nem nos que foram injetados com metilatropina ( $r= 0,89$ ,  $p= 0,29$ ).

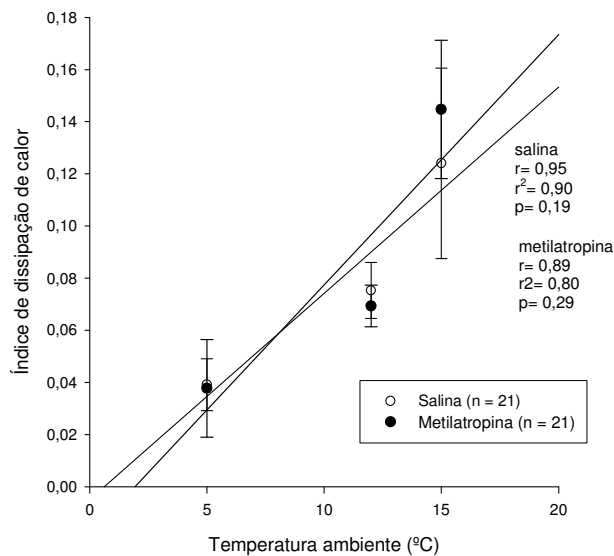


Gráfico 11.2: Correlação entre o índice de dissipação de calor e temperatura ambiente (°C) dos ratos que receberam injeção 0,2 µL de salina (0,15 M) ou metilatropina ( $2,5 \times 10^{-2}$  M).

#### 4.2.4- SITUAÇÃO: PÓS-EXERCÍCIO

##### 4.2.4.1- Temperatura interna – Pós-exercício

O gráfico 12.1 apresenta os valores médios das temperaturas internas dos ratos que receberam injeções de 0,2 µL de salina (0,15M) ou metilatropina ( $2,5 \times 10^{-2}$  M) nos VMH, após o exercício físico até a fadiga, a 5°C, 12°C e 15°C.

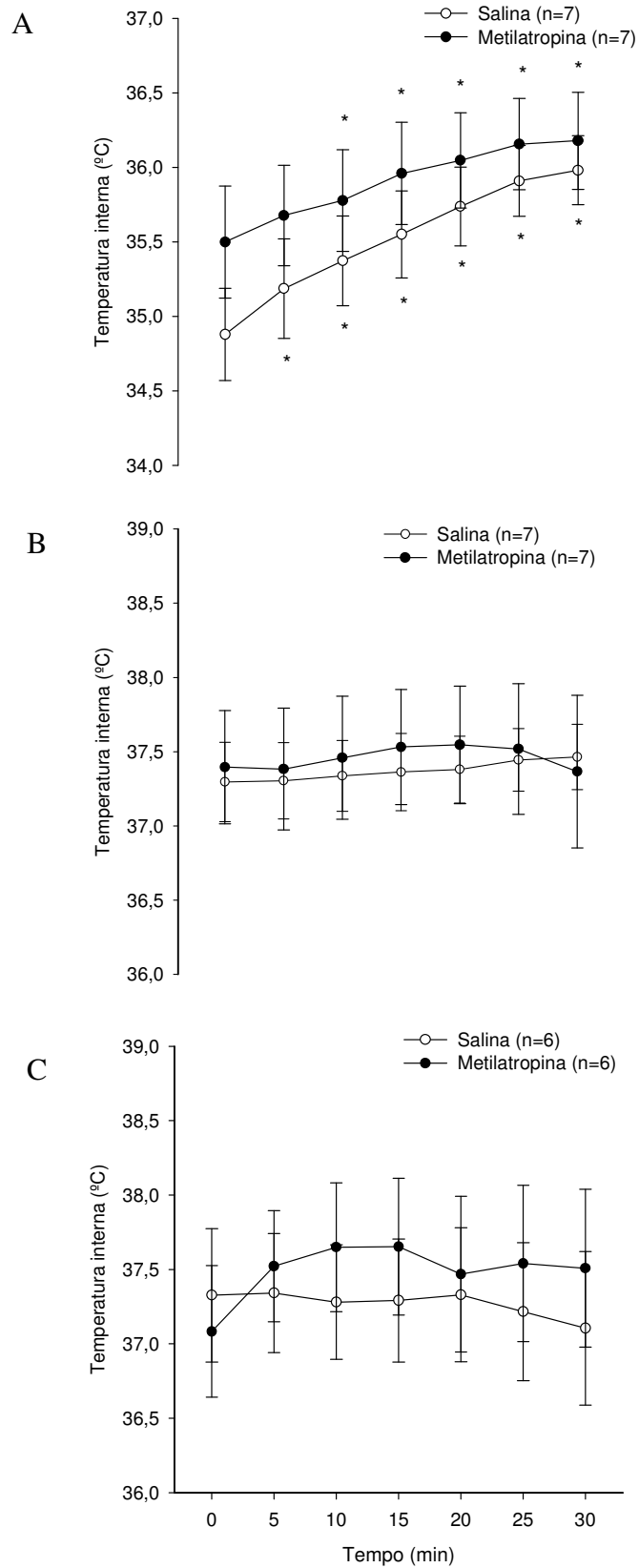


Gráfico 12.1: Efeito da injeção bilateral de 0,2µL de salina (0,15 M) ou de metilatropina ( $2,5 \times 10^{-2}$  M) nos VMH sobre a temperatura interna dos ratos, pós-exercício, a 5º C (A), a 12º C (B) e a 15º C (C). Os dados expressam média  $\pm$  EPM. \* =  $p < 0,05$  comparado ao 0 minuto.

A temperatura interna dos ratos aumentou a partir do 5º minuto pós-exercício no grupo salina ( $34,88 \pm 0,31^{\circ}\text{C}$  na fadiga vs  $35,19 \pm 0,33^{\circ}\text{C}$  aos 5 minutos;  $p < 0,05$ ) e a partir do 10º minuto no metilatropina ( $35,50 \pm 0,38^{\circ}\text{C}$  na fadiga vs  $35,78 \pm 0,34$  aos 10 minutos;  $p < 0,05$ ), a  $5^{\circ}\text{C}$ . A temperatura interna retornou ao valor encontrado no início do exercício no 10º minuto no grupo salina e no 5º minuto no metilatropina em temperatura ambiente de  $5^{\circ}\text{C}$ . A injeção de metilatropina bilateral nos VMH não alterou a temperatura interna em comparação ao grupo salina (fadiga:  $34,88 \pm 0,31^{\circ}\text{C}$ , SAL vs  $35,50 \pm 0,38^{\circ}\text{C}$ , MATR; 30 minutos:  $35,98 \pm 0,23^{\circ}\text{C}$ , SAL vs  $36,18 \pm 0,33^{\circ}\text{C}$ , MATR).

A  $12^{\circ}\text{C}$ , a temperatura interna dos ratos não foi diferente durante os 30 minutos pós-exercício nos grupos salina e metilatropina ( $37,30 \pm 0,27^{\circ}\text{C}$  na fadiga vs  $37,46 \pm 0,22^{\circ}\text{C}$  aos 30 minutos, SAL;  $37,40 \pm 0,38^{\circ}\text{C}$  na fadiga vs  $37,37 \pm 0,51^{\circ}\text{C}$  aos 30 minutos, MATR). As temperaturas internas não foram diferentes entre os grupos no período de 30 minutos pós-exercício.

A temperatura interna dos ratos não foi diferente durante os 30 minutos pós-exercício em temperatura ambiente de  $15^{\circ}\text{C}$  ( $37,33 \pm 0,45^{\circ}\text{C}$  na fadiga vs  $37,11 \pm 0,52^{\circ}\text{C}$  aos 30 minutos, SAL;  $37,08 \pm 0,44^{\circ}\text{C}$  na fadiga vs  $37,51 \pm 0,53^{\circ}\text{C}$  aos 30 minutos, MATR). A  $15^{\circ}\text{C}$ , a injeção de metilatropina bilateral nos VMH não modificou a temperatura interna comparado ao grupo salina (fadiga:  $37,33 \pm 0,45^{\circ}\text{C}$ , SAL vs  $37,08 \pm 0,44^{\circ}\text{C}$ , MATR; 30 minutos:  $37,11 \pm 0,52^{\circ}\text{C}$ , SAL vs  $37,51 \pm 0,53^{\circ}\text{C}$ , MATR).

#### **4.2.4.2- Temperatura da pele da cauda – Pós-exercício**

O gráfico 13.1 apresenta os valores médios da temperatura da pele da cauda de ratos que receberam injeção bilateral de  $0,2\mu\text{L}$  de salina ( $0,15\text{ M}$ ) ou de metilatropina ( $2,5 \times 10^{-2}\text{ M}$ ) nos núcleos ventromediais do hipotálamo durante 30 minutos pós-exercício, a  $5^{\circ}\text{C}$ ,  $12^{\circ}\text{C}$  e  $15^{\circ}\text{C}$ .

A temperatura da pele da cauda dos ratos não alterou durante os 30 minutos pós-exercício no grupo salina a  $5^{\circ}\text{C}$  ( $8,44 \pm 0,67^{\circ}\text{C}$  na fadiga vs  $8,37 \pm 0,31^{\circ}\text{C}$  aos 30 minutos) e a  $12^{\circ}\text{C}$  ( $15,23 \pm 0,31^{\circ}\text{C}$  na fadiga vs  $14,23 \pm 0,30^{\circ}\text{C}$  aos 30 minutos). A injeção de metilatropina não alterou a resposta da temperatura da pele da cauda nas

situações pós-exercício em temperatura ambiente de 5°C ( $8,46 \pm 0,31^{\circ}\text{C}$  na fadiga vs  $8,67 \pm 0,33^{\circ}\text{C}$  aos 30 minutos) e 12°C ( $15,01 \pm 0,37^{\circ}\text{C}$  na fadiga vs  $14,09 \pm 0,36^{\circ}\text{C}$  aos 30 minutos).

A 15°C, a temperatura da pele da cauda dos animais salina reduziu após o 2º minuto pós-exercício ( $19,36 \pm 0,76^{\circ}\text{C}$  na fadiga vs  $18,94 \pm 0,60^{\circ}\text{C}$  aos 2 minutos), assim como no grupo metilatropina ( $18,70 \pm 0,32^{\circ}\text{C}$  na fadiga vs  $18,28 \pm 0,30^{\circ}\text{C}$  aos 2 minutos). A temperatura da pele da cauda dos animais não apresentou diferença entre os grupos durante o período pós-exercício (fadiga:  $19,36 \pm 0,76^{\circ}\text{C}$ , SAL vs  $18,70 \pm 0,32^{\circ}\text{C}$ , MATR; 30 minutos:  $17,03 \pm 0,14^{\circ}\text{C}$ , SAL vs  $16,99 \pm 0,18^{\circ}\text{C}$ , MATR).

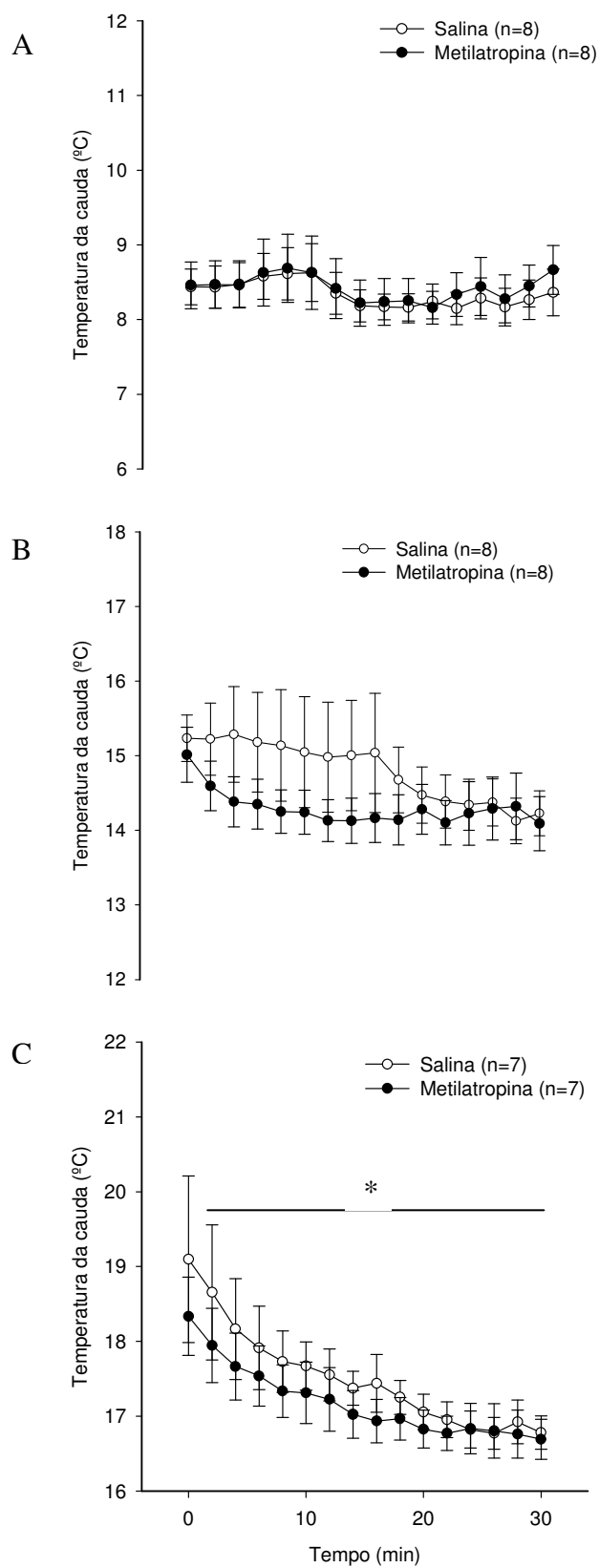


Gráfico 13.1: Efeito da injeção bilateral de 0,2µL de salina (0,15 M) ou de metilatropina ( $2,5 \times 10^{-2}$  M) nos VMH sobre a temperatura da pele da cauda dos ratos, pós-exercício, a 5° C (A), a 12° C (B) e a 15° C (C). Os dados expressam média  $\pm$  EPM. \* =  $p < 0,05$  comparado ao 0 minuto.



### 4.3- AMBIENTE DE 23°C E 50% URA.

#### 4.3.1- Temperatura interna e temperatura da pele da cauda dos ratos

A temperatura interna e a temperatura da pele da cauda dos ratos foram medidas no ambiente de 23°C e 50% URA dentro da câmara ambiental. O objetivo foi verificar se a exposição à câmara ambiental altera essas variáveis.

Os gráficos 14.1 e 14.2 apresentam os valores médios das temperaturas interna e da pele da cauda de animais com cânulas nos VMH, porém sem injeção de fármacos, durante 60 minutos de repouso, em um ambiente de 23°C, dentro da câmara ambiental.

A temperatura interna dos animais aumentou durante os 60 minutos de repouso e permaneceu elevada durante todo o período. A temperatura interna aumentou a partir do 4º minuto de repouso ( $36,04 \pm 0,24^{\circ}\text{C}$  - 0 minuto vs  $36,19 \pm 0,21^{\circ}\text{C}$  - 4 minutos;  $p < 0,001$ ).

A temperatura da pele da cauda dos ratos reduziu a partir do 2º minuto de repouso e permaneceu reduzida até o minuto 60 ( $24,24 \pm 0,12^{\circ}\text{C}$  - ao 0 minuto vs  $23,74 \pm 0,10^{\circ}\text{C}$  - 2 minutos;  $p < 0,01$ ).

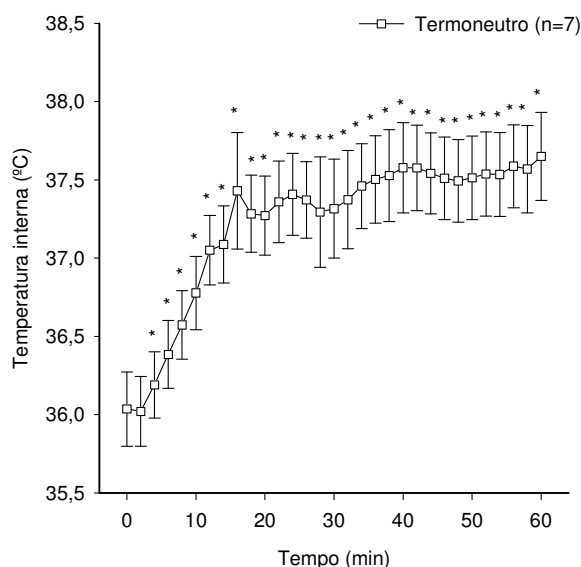


Gráfico 14.1: Temperatura interna, em °C, de ratos com cânulas nos VMH, sem injeção de solução, durante 1 hora de repouso, em ambiente de 23 °C, dentro da câmara ambiental. Os dados expressam média ± EPM.

\* =  $p < 0,05$  comparado ao 0 minuto.

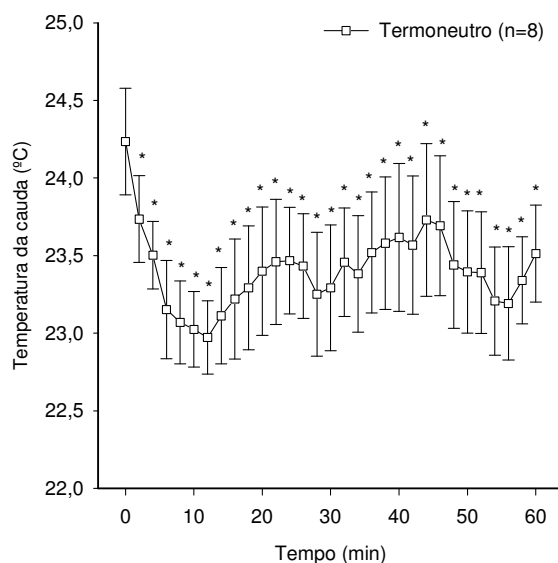


Gráfico 14.2: Temperatura da pele da cauda, em °C, de ratos com cânulas VMH, sem injeção de soluções, durante 1 hora de repouso, em ambiente de 23 °C, dentro da câmara ambiental. Os dados expressam média ± EPM. \* = p<0,05 comparado ao 0 minuto.

#### 4.4- VARIÁVEIS DE CONTROLE

A tabela 3 apresenta as variáveis de controle medidas após as injeções de salina (0,15M) ou de metilatropina ( $2,5 \times 10^{-2}$  M) nos ratos utilizados no experimento com temperatura ambiente de 5°C e URA de 50%.

Tabela 3: Variáveis de controle medidas no delineamento experimental 2, nas situações experimentais em ambiente de 5°C.

	Salina repouso	Metilatropina repouso	Salina exercício	Metilatropina exercício
Peso dos animais (g)	303,50 ± 6,79	301,22 ± 7,39	299,43 ± 9,97	296,93 ± 9,17
Temp. esteira (°C)	7,00 ± 0,10	6,83 ± 0,12	7,20 ± 0,50	7,25 ± 0,53

A tabela 4 apresenta as variáveis de controle medidas após as injeções de salina (0,15M) ou de metilatropina ( $2,5 \times 10^{-2}$  M) nos ratos utilizados no experimento com temperatura ambiente de 12°C e URA de 50%.

Tabela 4: Variáveis de controle medidas no delineamento experimental 2, nas situações experimentais em ambiente de 12°C.

	<b>Salina repouso</b>	<b>Metilatropina repouso</b>	<b>Salina exercício</b>	<b>Metilatropina exercício</b>
Peso dos animais (g)	303,87 ± 6,51	303,56 ± 8,62	308,43 ± 8,64	300,93 ± 9,14
Temp. esteira (°C)	12,86 ± 0,25	13,00 ± 0,27	13,33 ± 0,24	13,30 ± 0,24

A tabela 5 apresenta as variáveis de controle medidas após as injeções de salina (0,15M) ou de metilatropina ( $2,5 \times 10^{-2}$  M) nos ratos utilizados no experimento com temperatura ambiente de 15°C e URA de 50%.

Tabela 5: variáveis de controle medidas no delineamento experimental 2, nas situações experimentais em ambiente de 15°C.

	<b>Salina repouso</b>	<b>Metilatropina repouso</b>	<b>Salina exercício</b>	<b>Metilatropina exercício</b>
Peso dos animais (g)	300,41 ± 8,80	297,83 ± 11,74	312,33 ± 15,97	311,58 ± 15,70
Temp. esteira (°C)	15,19 ± 0,08	15,21 ± 0,08	15,54 ± 0,14	15,62 ± 0,11

## **5- DISCUSSÃO**

## 5.1- DELINEAMENTO EXPERIMENTAL 1

O presente estudo, no delineamento experimental 1, teve como objetivo definir uma temperatura ambiente na qual a taxa de variação de calor corporal dos ratos, durante o exercício físico de 20m/min, 5% de inclinação até a fadiga fosse igual a zero. Essa padronização é importante devido à temperatura interna e a taxa de variação de calor ser consideradas fatores limitantes para o desempenho físico durante o exercício prolongado.

Conforme a gráfico 2.1, a temperatura interna dos ratos não se alterou do início do exercício físico até o momento da fadiga em exposição à temperatura ambiente de 12°C. Esse comportamento da temperatura interna dos animais resultou em uma taxa de variação de calor igual a zero.

O aumento da temperatura interna e da taxa de variação de calor está associado à interrupção do exercício físico em roedores (FULLER, et al., 1998; LACERDA, et al., 2005; RODRIGUES et al., 2003; SOARES et al, 2004; WALTERS et al., 2000) e em seres humanos (GALLOWAY e MAUGHAN, 1997; GONZÁLES-ALONSO et al., 1999; GUIMARÃES E SILAMI-GARCIA, 1993; NIELSEN et al, 1997). Em um trabalho anterior do nosso laboratório, RODRIGUES et al. (2003) demonstraram que a taxa de variação de calor foi a variável que melhor explicou a duração diferente do exercício físico realizado em duas velocidades (20m/min e 24m/min) e em três temperaturas ambientes (22°C, 28°C e 35°C). Foi verificado que quanto mais intenso o exercício ou quanto maior a temperatura ambiente, maior é a taxa de variação de calor e menor é o tempo total de exercício.

Da mesma forma, MATTHEW et al. (1993) observaram uma redução no desempenho devido ao aumento da taxa de variação de calor e não por uma temperatura interna crítica limitante. Conclui-se que quanto maior a temperatura ambiente, menor o tempo total de exercício físico, maior a taxa de variação de calor e maior é a temperatura colônica dos animais no momento da exaustão.

NYBO e NIELSEN (2001) estudaram os efeitos da hipertermia sobre a fadiga neuromuscular em homens saudáveis. Foi observado que após o exercício em ambiente quente de 40°C, a temperatura interna aumentou até  $40,0 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$  e no grupo controle (ambiente de 18°C) estabilizou-se em  $38,0 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ . A força gerada em uma contração voluntária máxima foi menor após o exercício em ambiente hipertérmico comparado à situação controle. Esses dados demonstram que a habilidade de gerar

força está atenuada em ambiente quente e que esse resultado pode estar associado a uma redução no percentual de ativação voluntária da musculatura.

Sugere-se que o aumento da temperatura interna corporal diminua a estimulação proveniente do sistema nervoso central para a manutenção do exercício físico (NIELSEN et al., 1997; NYBO e NIELSEN, 2001) e assim precipite a fadiga, protegendo o cérebro de lesões térmicas.

Em temperaturas ambientes frias, a taxa de variação de calor corporal também apresentou alta correlação com o tempo total de exercício (WANNER et al, 2003).

WANNER et al, 2003 encontraram uma taxa de variação de calor negativa durante uma corrida em esteira a 20 m/min, 5% de inclinação até a fadiga em temperatura ambiente de 0°C. A temperatura interna dos animais reduziu durante o exercício físico em ambiente frio de 0°C. O desempenho físico correlacionou-se negativamente com a taxa de variação de calor, ou seja, quanto menor a capacidade dos animais evitarem reduções da temperatura interna, menor o tempo total de exercício.

Segundo GORDON (1993), os ratos sobrevivem até uma temperatura interna superior máxima de 44°C e inferior máxima de 16-20°C. Embora os roedores apresentem maior tolerância ao frio em comparação ao calor, CARDER et al (2005) e GORDON (1993) descreveram que a temperatura ambiente fria é um preditor de mortalidade e que essa relação se dá de maneira não linear.

Animais expostos ao ambiente frio de 0°C, durante o repouso, conseguem manter a temperatura interna, evitando a hipotermia. Entretanto, durante o exercício físico, alguns mecanismos comportamentais estão impossibilitados, deixando o animal mais exposto às condições ambientais. WANNER et al. (2003) observaram que os animais durante o repouso em ambiente frio de 0°C permaneciam imóveis a maioria do tempo de exposição, realizando poucos movimentos no interior da esteira. Os animais assumiam um formato de “bola”, reduzindo a superfície corporal para trocas térmicas, aumentando a capacidade insulativa. Além disso, essa posição protege a cabeça e mantém a cauda sob o corpo do animal, reduzindo a possibilidade de dissipação de calor. Dessa forma, os animais conservaram mais calor resultando em aumento da temperatura. Foram observados ainda mecanismos termorregulatórios de produção/conservação de calor como piloereção e tremor. Durante o exercício físico, pequenos mamíferos, como os roedores, apresentam uma maior superfície

disponível para as trocas térmicas com o ambiente, principalmente as patas e cauda, resultando em maior dissipação de calor. Além disso, é provável a existência do aumento da convecção na pele da cauda e alterações na dissipação de calor pela respiração.

Em humanos, alguns danos fisiológicos podem ocorrer anteriores à morte por hipotermia, em temperaturas ambientes frias abaixo de 18°C (CANDER et al, 2005). Inúmeros parâmetros considerados de risco para doenças cardiovasculares, incluindo aumento da frequência cardíaca, aumento da pressão arterial, vasoconstrição periférica exacerbada, isquemias, formação de trombos, têm sido associados a temperaturas ambientes frias. As doenças respiratórias também se relacionam ao ambiente frio devido ao aumento do número de infecções. Ambas as doenças sistêmicas estão associadas à maior incidência de mortes induzidas pelo frio, mesmo que a temperatura interna inferior máxima não seja atingida.

Assim, sugere-se que da mesma forma que durante a exposição ao ambiente quente, a taxa de variação de calor negativa resultaria numa redução de outputs cerebrais para a manutenção da atividade física, preservando a homeostasia anterior a danos teciduais por efeitos diretos ou indiretos da temperatura ambiente fria.

No presente estudo, em temperatura ambiente de 8°C, a temperatura interna dos ratos reduziu até o final do exercício e a fadiga pode estar associada a um fator de redução da temperatura interna. Já em ambiente de 15°C, a fadiga associou-se a um componente de aumento da temperatura interna dos ratos. Em ambas as situações não foram observadas temperaturas internas inferiores ou superiores máximas na fadiga. Embora haja alterações na temperatura interna dos ratos a 8°C e a 15°C, os valores da variação da temperatura interna são muito pequenos, não podendo explicar o motivo pelo qual a fadiga foi desenvolvida. Entretanto, considerando a fadiga como um mecanismo de sistemas fisiológicos integrados, o fator termorregulatório pode ter contribuído para sua instalação.

A temperatura ambiente de 12°C não modificou a temperatura interna dos ratos durante uma corrida de 20 m/min, 5% de inclinação até a fadiga resultando em trabalho de  $28,97 \pm 3,20$  kgm. Esse protocolo é importante para o desenvolvimento de novas pesquisas que buscam o entendimento dos mecanismos envolvidos na fadiga e na regulação da temperatura corporal e ainda, na associação de ambos.

Utilizando dados de pesquisas realizadas no nosso laboratório (RODRIGUES et al., 2003; WANNER et al., 2003; presente estudo), verifica-se uma alta correlação entre a temperatura ambiente e a variação da temperatura interna (Gráfico 15.1;  $p < 0,001$ ) e ainda, entre a temperatura ambiente e a taxa de variação de calor (Gráfico 15.2;  $p < 0,0001$ ).

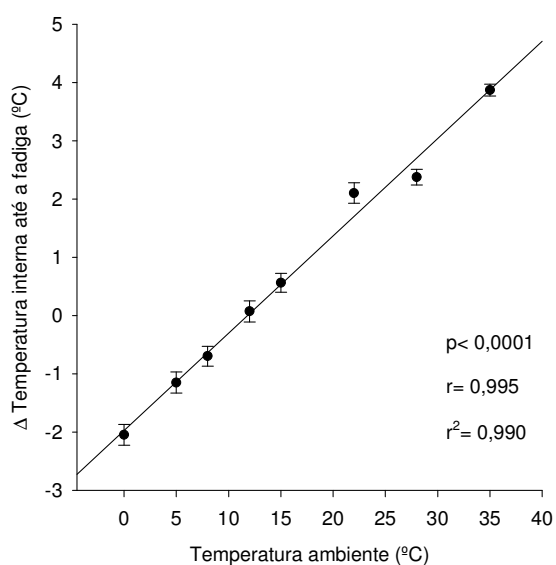


Gráfico 15.1: Correlação entre a variação da temperatura interna até a fadiga (°C) e a temperatura ambiente. Os dados estão expressos em média  $\pm$  EPM.

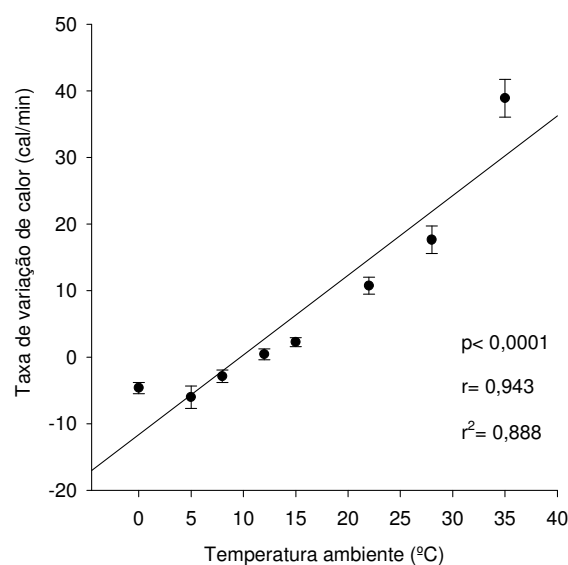


Gráfico 15.2: Correlação entre a taxa de variação de calor (cal/min) e a temperatura ambiente. Os dados estão expressos em média  $\pm$  EPM.

Diante disso, quanto maior a temperatura ambiente, maior é a variação da temperatura interna até a fadiga e maior a taxa de elevação da temperatura interna. Assim, o protocolo de exercício em esteira a aproximadamente  $67\%VO_{2max}$  em uma temperatura ambiente de  $12^{\circ}C$  é interessante, uma vez que não ocorrem alterações de temperatura interna, fazendo do componente térmico um fator não determinante para o desenvolvimento da fadiga, possibilitando o estudo de outras variáveis envolvidas na interrupção do estudo.

Contrariando as expectativas, o tempo total de exercício físico até a fadiga não foi diferente entre as temperaturas ambientes estudadas,  $8^{\circ}C$ ,  $12^{\circ}C$  e  $15^{\circ}C$  (gráfico 1). Embora em temperatura ambiente de  $8^{\circ}C$  a fadiga possa estar associada a uma redução de temperatura interna e a  $15^{\circ}C$  possa se relacionar a um aumento, o fator termorregulatório não foi preponderante para a fadiga. Esse dado reforça o conceito



de fadiga proposto por RODRIGUES e SILAMI-GARCIA (1998) como uma integração de vários estímulos sensoriais associados à determinação da intensidade e da duração suportáveis de exercício em função da temperatura ambiente em exposição. A fadiga entendida como um sistema de limites integrados inclui entre outros fatores, a disponibilidade de substratos, fluxo sanguíneo, ventilação pulmonar, adequada atividade neurohumoral, bem como a manutenção do equilíbrio ácido-base, hidro-eletrolítico e térmico. Assim, a fadiga seria desenvolvida por um desequilíbrio em qualquer desses estímulos, anterior ao rompimento da homeostase. Cada um dos diferentes sistemas fisiológicos envolvidos na homeostase pode ser solicitado de maneira diferente de acordo com a intensidade do exercício e a temperatura ambiente na qual se está exposto. A fadiga é desencadeada pela combinação das informações de cada sistema quando a resultante indica a possibilidade de risco iminente para a homeostase, seja pelo somatório de solicitações de cada um dos sistemas, seja pela proximidade do limite de um determinado componente. Dessa forma, anterior à exposição do organismo ao risco de falha na homeostase, a fadiga é instaurada.

Os ajustes cardiovasculares e termorregulatórios ocorrem de maneira integrada, sendo que o aumento do fluxo sanguíneo, além de fornecer maior quantidade de substratos e de oxigênio aos músculos, transfere o calor produzido durante a contração muscular para a periferia do corpo (GLEESON, 1998). A taxa de transferência de calor do interior do corpo para a superfície é controlada pela atividade do sistema nervoso simpático para os vasos da pele (OWENS et al, 2000). O sangue circulante no interior do corpo chega à pele aquecendo-a e por meio de convecção ocorrem trocas de calor entre a superfície do corpo e o ambiente. Os ajustes de dissipação de calor ocorrem em função das alterações na temperatura do sangue que perfunde o hipotálamo e os receptores viscerais e da temperatura ambiente que estimula os termossensores de pele (GORDON, 1993). Entretanto, estímulos não térmicos, incluindo o aumento da pressão arterial durante o exercício dinâmico também interferem na dissipação de calor (PIRES et al, 2007; ROWELL et al, 1973). A estimulação colinérgica central através da injeção intracerebroventricular de fisostigmina aumentou a pressão arterial e, na seqüência, a temperatura da cauda dos ratos em exercício físico. A temperatura interna aumentou após o aumento da temperatura da cauda. Dessa forma, acredita-se que a dissipação de calor tenha sido modulada principalmente por estímulos não termorregulatórios. De

fato, o aumento da temperatura da cauda induzido pela fisostigmina correlacionou-se com o aumento da pressão arterial sistólica em repouso e durante o exercício. Além disso, é provável que os vasos da cauda do rato não estivessem dilatados em função da pressão diastólica aumentada. Portanto, o aumento da temperatura da cauda possivelmente foi uma consequência de um aumento do fluxo sanguíneo devido a pressão arterial média aumentada e a maior dissipação de calor ocorreu em função de ajustes cardiovasculares (PIRES et al., 2007).

Por outro lado, durante o exercício realizado no frio, a dissipação de calor para o ambiente pode ser maior que o calor produzido pela contração muscular, levando a uma maior ativação dos mecanismos responsáveis pela conservação do calor corporal.

No presente estudo, a temperatura da pele da cauda diminuiu a partir do 2º minuto de exercício e permaneceu reduzida até a fadiga nas três temperaturas ambientes estudadas. O fato de não haver um aumento na temperatura da cauda, indicando vasodilatação cutânea e consequente dissipação de calor se deve ao estímulo da temperatura ambiente fria. GORDON (1993) destaca que a temperatura da pele da cauda é altamente influenciada pela temperatura ambiente. Sugere-se que no presente estudo, houve uma estimulação dos receptores sensoriais cutâneos devido à temperatura ambiente fria, aumentando a atividade simpática e consequente vasoconstrição na tentativa de conservar o calor corporal. Os receptores ao frio estão localizados na ou imediatamente sob a epiderme. Essas células são rapidamente ativadas quando a temperatura ambiente reduz. Ocorre uma modificação no potencial de repouso da membrana celular o que altera a frequência de estímulos simpáticos para as respostas efectoras ao frio (ROMANOVSKY, 2007). Há um redirecionamento do fluxo sanguíneo para regiões centrais corporais reduzindo a dissipação do calor (RODRIGUES et al, 1999).

Além disso, a produção metabólica de calor pelo exercício não foi suficiente para sobrepor ao estímulo vasoconstritor da temperatura ambiente fria e induzir

vasodilatação para dissipação de calor. Esse resultado é confirmado pelo índice de dissipação de calor, o qual a maior parte do tempo de exposição se encontra com valores próximos de 0, mostrando uma vasoconstrição periférica quase máxima.

## **5.2- DELINEAMENTO EXPERIMENTAL 2**

### **5.2.1- Situação: Repouso**

Durante o repouso, a temperatura interna dos animais aumentou nas três temperaturas ambientes estudadas. Não houve diferença entre os grupos a 5°C, a 12°C e a 15°C; (gráfico 5.2).

Os animais permaneciam imóveis a maioria do tempo de exposição ao frio, realizando poucos movimentos no interior da esteira. Os animais assumiam um formato de “bola”, reduzindo a superfície corporal para trocas térmicas, aumentando a capacidade insulativa. Além disso, essa posição protege a cabeça e mantém a cauda próxima ao corpo do animal, reduzindo a possibilidade de dissipação de calor. Dessa forma, os animais conservaram mais calor, resultando em aumento da temperatura interna. Foram observados ainda mecanismos termorregulatórios de produção/conservação de calor como piloereção e tremor.

A injeção de metilatropina nos VMH não alterou a temperatura interna dos animais. Entretanto, de maneira geral, os VMH parecem estar envolvidos nas respostas de defesa contra o frio, estimulando a produção de calor, diminuindo a dissipação de calor e induzindo formas comportamentais de conservação (OOTSUKA e MCALLEN, 2006).

O bloqueio funcional dos VMH de ratos em repouso aumentou o metabolismo e promoveu respostas neuroendócrinas semelhantes ao exercício como o aumento das concentrações de catecolaminas plasmáticas (VISSING et al., 1989). Dessa

forma, o aumento da estimulação simpática induzida pelo bloqueio colinérgico dos VMH pode ter contribuído para a elevação da temperatura interna induzindo um aumento da taxa metabólica (WANNER, 2006) e/ou uma redução da dissipação de calor devido ao aumento da vasoconstrição periférica indicada pela redução na temperatura da pele da cauda dos ratos.

LIN et al. (1980) avaliaram os efeitos produzidos pela injeção de agonistas e antagonistas colinérgicos no ventrículo lateral cerebral sobre a termorregulação de ratos em repouso. As injeções de acetilcolina, pilocarpina, fisostigmina, atropina e hemicolina produziram hipotermia dependente da dose, nas duas temperaturas estudadas (8°C e 22°C). A hipotermia induzida pelos agonistas colinérgicos (acetilcolina, pilocarpina e fisostigmina) foi causada pela redução na produção metabólica de calor e pela vasodilatação cutânea da cauda e da pata dos ratos. Enquanto a hipotermia induzida pelos antagonistas colinérgicos foi causada apenas pela redução metabólica de calor.

Por outro lado, KIRKPATRICK e LOMAX (1967) observaram que a atropina possui um efeito dual sobre a temperatura corporal do rato, dependendo se o local da ação é predominantemente periférico ou central. As injeções de sulfato de atropina ou metilatropina via intraperitoneal causaram uma redução da temperatura retal, enquanto a injeção de sulfato de atropina na região da área preótica e do hipotálamo anterior aumentou a temperatura retal. O aumento da temperatura retal foi atribuído ao bloqueio dos receptores colinérgicos, o que pode ter aumentado o ponto de ajuste hipotalâmico e, conseqüentemente, ativado mecanismos de produção e conservação de calor.

Contrariando essa teoria, TAKAHASHI et al. (2001) demonstraram que a perfusão central de sulfato de atropina no ventrículo esquerdo não alterou a temperatura

corporal de ratos. LIN et al. (1980) também observaram que uma determinada dose de sulfato de atropina, atenuou a hipotermia causada pelos agonistas colinérgicos em repouso embora não produza alteração na temperatura retal dos ratos quando injetada sozinha.

A ausência de efeitos da metilatropina na temperatura interna, no presente estudo, indica que o estímulo simpático proveniente da exposição ao frio pode ter contribuído de maneira tão intensa quanto o estímulo induzido pelo bloqueio colinérgico muscarínico. Dessa forma, as alterações sobre a produção e dissipação de calor induzidas pela injeção de metilatropina nos VMH não puderam ser visualizadas.

No estudo de MORIMOTO et al. (1986), quando os animais foram expostos ao frio, houve um significativo aumento na incorporação de [C14]-deoxiglicose no putâmem caudal, na área preótica lateral, no prosencéfalo medial, no hipotálamo ventromedial, no hipotálamo posterior, no tálamo ventro-postero-medial, no tálamo dorsomedial, na substância negra e nos núcleos vermelhos. A realização de mecanismos comportamentais para a termorregulação aumentou a incorporação de [C14]-deoxiglicose no sulco do córtex pré-frontal, no córtex sensório-motor e tálamo dorsomedial e reduziu a incorporação em outras áreas cerebrais incluindo os VMH. Experimentos com coelhos mostraram que a estimulação elétrica do VMH aumentou o consumo de oxigênio, o que contribuiu para o aumento da temperatura interna. Além disso, após a estimulação, a frequência respiratória diminuiu, os animais encolheram-se e houve tremor nos membros inferiores (MORIMOTO et al., 1986). Esses dados confirmam a participação dos VMH em mecanismos comportamentais para a regulação da temperatura interna. A partir desse resultado, é possível que a resposta do bloqueio colinérgico muscarínico no presente estudo tenha sido

compensada pela ativação de outras áreas envolvidas na termorregulação autonômica ou comportamental induzida pela exposição ao ambiente frio.

A temperatura a pele da cauda dos animais reduziu a partir do segundo minuto de repouso nas três temperaturas ambientes estudadas. A injeção de metilatropina nos VMH não alterou a temperatura da pele da cauda em comparação ao grupo salina.

A cauda do rato é o principal local de transferência de calor ao ambiente (OWENS et al., 2002). A circulação da cauda está envolvida nos mecanismos de ajustes cardiovasculares bem como na manutenção da homeostase termorregulatória (PIRES et al., 2006). Durante o repouso, a dissipação de calor através da cauda é equivalente a 25% da produção basal de calor (RAND et al., 1965). Dados de nosso laboratório mostraram que a injeção intracerebroventricular de fisostigmina na concentração de  $5 \times 10^{-3}$  M em ratos durante o repouso, a 23°C, não alterou a temperatura colônica, possivelmente devido a um aumento na dissipação de calor. Já a injeção intracerebroventricular de fisostigmina na concentração de  $25 \times 10^{-3}$  M provocou diminuição na temperatura intraperitoneal dos ratos em repouso, que foi precedida por aumento da temperatura da pele da cauda (PRÍMOLA-GOMES, 2004; RODRIGUES et al., 2002).

Entretanto, em exposição ao frio há um aumento da atividade simpática, ocasionando uma vasoconstrição periférica, conservando o calor corporal (OOTSUKA e MCALLEN, 2006).

Além disso, durante o repouso, parece que os VMH não apresentam uma inibição tônica sobre a atividade simpática, o que pode explicar o efeito similar na temperatura interna e da pele da cauda dos animais entre os grupos salina e metilatropina. Assim, o bloqueio dos receptores muscarínicos não altera os mecanismos de produção ou dissipação de calor durante o repouso. Esses dados

são confirmados por WANNER (2006) que demonstrou não haver alteração nas respostas da temperatura interna de ratos em repouso, após 10 minutos da aplicação da injeção de metilatropina nos VMH.

### **5.2.2- Situação: Exercício físico**

O bloqueio dos receptores muscarínicos colinérgicos presentes nos VMH reduziu a duração do exercício realizado a 20m/min e 5% de inclinação até a fadiga. No estudo de WANNER et al. (2007) a injeção de metilatropina nos VMH aumentou a taxa de acúmulo de calor corporal, amplificando o aumento da temperatura interna induzido pelo exercício. Esse aumento na temperatura interna parece ser devido a um atraso no aumento da temperatura da pele da cauda após a injeção do antagonista colinérgico, sendo necessário maior acúmulo de calor para ativar os mecanismos de dissipação de calor.

Durante o exercício em ambiente frio, houve uma alta correlação negativa entre a taxa de variação de calor e o tempo total de exercício. Esses dados mostraram que quanto maior a conservação de calor dos animais, maior foi a duração da corrida, a 0°C (WANNER et al, 2003).

Esses dados em conjunto, sugeriram que o bloqueio muscarínico colinérgico dos VMH induziria um atraso sobre a dissipação de calor, e conseqüentemente um retardo na redução da taxa de variação de calor. Assim, haveria uma maior conservação de calor permitindo a execução do exercício por um maior tempo em comparação ao grupo salina.

Entretanto, contrariando a hipótese do estudo, o tempo total de exercício reduziu em 34 a 37% nos animais com injeção de metilatropina em comparação aos animais salina (gráficos 7.1, 7.2, 7.3). O tempo total de exercício absoluto e a redução percentual nos animais com injeção de metilatropina nos VMH não foi diferente entre as temperaturas ambientes estudadas.

A redução do desempenho causada pela injeção bilateral de metilatropina nos VMH foi semelhante aos resultados obtidos em outros trabalhos desenvolvidos em nosso laboratório, porém em intensidades de exercício e temperaturas ambientes diferentes. LIMA (2000) verificou uma redução de 46% no tempo total de exercício

realizado com intensidade de  $80\%VO_{2max}$ , a  $23^{\circ}C$ . Além disso, WANNER et al. (2007) verificaram uma redução de 37% no desempenho de animais injetados com metilatropina.

Tabela 6: Estudos do nosso laboratório que verificaram uma redução no tempo de exercício de animais após a injeção de sulfato de atropina ou metilatropina.

	Presente estudo	Presente estudo	Presente estudo	LIMA et al. (1998)	LIMA (2000)	WANNER et al (2007)
<b>Temperatura ambiente</b>	5°C	12°C	15°C	23°C	23°C	23°C
<b>Intensidade de exercício</b>	67% $VO_{2max}$	67% $VO_{2max}$	67% $VO_{2max}$	67% $VO_{2max}$	80% $VO_{2max}$	80% $VO_{2max}$
<b>Local de injeção</b>	VMH	VMH	VMH	i.c.v.	VMH	VMH
<b>Volume injetado (metilatropina)</b>	0,2 µL	0,2 µL	0,2 µL	2,0 µL	0,2 µL	0,2 µL
<b>Dose injetada (metilatropina)</b>	$5 \times 10^{-9}$ mol	$5 \times 10^{-9}$ mol	$5 \times 10^{-9}$ mol	$5 \times 10^{-7}$ mol	$5 \times 10^{-9}$ mol	$5 \times 10^{-9}$ mol
<b>TTE (metilatropina)</b>	- 37%	- 36%	- 34%	- 44%	- 46%	- 37%

A antecipação da fadiga em ratos injetados com metilatropina nos VMH sugere que o bloqueador colinérgico exerça um efeito nos centros integrativos aumentando a interpretação das respostas sistêmicas em relação à intensidade de exercício e assim, aumentando os estímulos simpáticos à periferia. O bloqueio funcional dos VMH de ratos em repouso aumentou o metabolismo e promoveu respostas neuroendócrinas semelhantes às produzidas pelo exercício físico, embora os animais não tenham aumentado a atividade locomotora (VISSING et al.,1989). VISSING et al. (1989) sugeriram que a injeção de um anestésico local nos VMH pode ter inibido a atividade de neurônios com ação inibitória sobre o sistema nervoso simpático e sobre os corticotrófos da hipófise anterior. Além disso, é descrita a existência do neurotransmissor inibitório ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA) nos VMH (NARITA et al.,1994; NARITA et al., 1993). O aumento da atividade simpática após a injeção de metilatropina nos VMH é confirmado pelo aumento dos níveis sanguíneos de noradrenalina e de adrenalina em comparação ao grupo salina (LIMA, 2000). Além disso, respostas fisiológicas, que são moduladas diretamente pela ativação simpática, como a pressão arterial, a produção de calor, a



concentração de glicose plasmática e o lactato, aumentaram mais rapidamente durante o exercício após a injeção de metilatropina. No entanto, essas variáveis não apresentaram valores diferentes no momento da fadiga em comparação ao grupo salina (LIMA, 2000; WANNER, 2006; WANNER et al. 2007).

Uma outra possível hipótese para explicar a redução do desempenho induzido pela metilatropina é a diminuição da motivação causada por fatores independentes dos ajustes da temperatura corporal. NEWSHOLME et al. (1992) sugeriram a hipótese da fadiga central, a qual está fundamentada em evidências de que o aumento da concentração cerebral de serotonina está relacionado à diminuição do desempenho durante o exercício prolongado. Ainda, sugere-se que o aumento da concentração de serotonina cerebral esteja relacionado à redução da motivação para a corrida. Corroborando com essa hipótese, SOARES et al. (2003) verificaram a redução no tempo de exercício dos ratos injetados com triptofano, precursor da serotonina, no ventrículo cerebral lateral. Essa redução do desempenho foi acompanhada de um aumento no consumo de oxigênio e conseqüente redução da eficiência mecânica. Dados ainda não publicados de nosso laboratório demonstraram um aumento no consumo de oxigênio dos animais que receberam injeção de metilatropina nos VMH em ambiente de 23°C. Em conjunto, o aumento do consumo de oxigênio e a redução da eficiência mecânica sugerem uma explicação para a redução do trabalho realizado dos animais do grupo metilatropina no presente estudo. O envolvimento do hipotálamo no controle de alguns comportamentos já foi descrito (MORIMOTO et al., 1986; CANTERAS, 2003). Os VMH estão envolvidos nas respostas de medo inato, como aquelas verificadas na presença de um predador (CANTERAS, 2003). Além disso, foi verificado que a estimulação elétrica da região ventral do hipotálamo medial induz respostas agressivas em gatos (NAKAO, 1958).

No entanto, é improvável que a metilatropina tenha interferido na motivação dos ratos, pois as respostas não foram diferentes nas duas situações experimentais, no momento da fadiga. Caso a motivação estivesse diminuída, seria esperado que os ratos realizassem um menor trabalho e interrompesse o exercício com respostas simpáticas reduzidas, o que não foi observado nos valores de temperatura interna e de temperatura da pele da cauda.

Outra hipótese é a de que as respostas eferentes simpáticas estão alteradas nos animais com injeção de metilatropina nos VMH. Sugere-se que o bloqueio colinérgico dos VMH reduz o tempo total de exercício por interferência nos centros

motores e conseqüentemente, alterando o estímulo para a placa motora. Há evidências da existência de conexões anatômicas e funcionais do VMH ao córtex motor intermediadas pelo hipocampo (RICARDO, 1983). Dessa forma, o número de receptores bloqueados alteraria a resposta eferente motora. Entretanto, é improvável que o bloqueio muscarínico possua uma interferência direta sobre o córtex motor via VMH, pois não foram observadas dificuldades de coordenação nos animais injetados com metilatropina.

A semelhança entre a redução do tempo total de exercício de ratos injetados com metilatropina encontrada no presente estudo e estudos anteriores de nosso laboratório sugere que a quantidade de receptores bloqueados nos VMH esteja envolvida nessa resposta. IGUCHI et al. (1991) demonstraram que a injeção de sulfato de atropina  $5 \times 10^{-9}$  mol, bilateralmente nos VMH, bloqueou aumento da concentração plasmática de glicose induzido pela estimulação colinérgica do hipocampo dorsal. A injeção de atropina  $5 \times 10^{-8}$  mol não produziu efeitos adicionais, enquanto  $5 \times 10^{-10}$  mol bloqueou parcialmente a resposta hiperglicêmica. Entretanto, é necessária a realização de estudos para verificar o efeito de uma curva dose-resposta de metilatropina injetada nos VMH sobre o tempo total de exercício físico, em uma mesma temperatura ambiente, para confirmar essa hipótese.

A redução do desempenho induzida pela metilatropina foi específica aos núcleos ventromediais hipotalâmicos, uma vez que as injeções realizadas em outras áreas do hipotálamo não alteraram o tempo total de exercício dos ratos (figura 6.4). Esse resultado corrobora com o estudo de WANNER et al. (2007). A injeção de metilatropina nos núcleos arqueado ou de forma dispersa no hipotálamo não alterou o tempo total de exercício em comparação ao grupo salina (WANNER, 2006). É provável que os VMH sejam um dos núcleos cerebrais envolvidos na redução do desempenho causada pela injeção intracerebroventricular de atropina (LIMA et al., 1998).

Cabe salientar que a canulação dos VMH não interfere no tempo total de exercício dos animais a 12°C ( $58,28 \pm 4,88$  minutos, ratos intactos vs  $49,33 \pm 3,79$  minutos, SAL VMH) e a 15°C ( $61,32 \pm 6,80$  minutos, ratos intactos vs  $50,71 \pm 4,65$  minutos, SAL VMH); (Anexo 2).

É descrito na literatura que os receptores colinérgicos cerebrais participam do controle da termorregulação e estudos histoquímicos comprovaram a existência desse neurotransmissor hipotalâmico nesta função (RAO et al., 1987). Estudos do

nosso laboratório também verificaram a participação de neurônios colinérgicos na regulação da temperatura interna em repouso (PIRES et al., 2007) e em exercício (RODRIGUES et al., 2004; LIMA et al., 1998; WANNER et al., 2007). A estimulação de receptores colinérgicos pela injeção de agonistas reduz a temperatura interna de ratos (BAIRD et al., 1973; LIN et al., 1980; UNAL et al., 1998). É importante destacar que a administração intra-peritoneal dos agentes colinérgicos, na mesma concentração utilizada para as injeções no sistema nervoso central, não altera a temperatura interna dos ratos, mostrando que o efeito é específico à estimulação dos receptores centrais (UNAL et al., 1998). LIN et al. (1980) observaram que uma determinada dose de sulfato de atropina, embora não produzisse alteração na temperatura retal dos ratos, atenuou a hipotermia causada pelos agonistas colinérgicos. Esses dados demonstram a participação dos receptores colinérgicos muscarínicos na regulação da temperatura corporal.

No presente estudo, os ratos interromperam o exercício com temperaturas internas variando de  $34,85 \pm 0,30^{\circ}\text{C}$  a  $37,34 \pm 0,42^{\circ}\text{C}$  nos animais injetados com salina e de  $35,49 \pm 0,34^{\circ}\text{C}$  a  $37,08 \pm 0,43^{\circ}\text{C}$  no grupo que recebeu a injeção bilateral de metilatropina, em temperatura ambiente de  $5^{\circ}\text{C}$ ,  $12^{\circ}\text{C}$  e  $15^{\circ}\text{C}$ . Esses valores são menores que os previamente descritos na literatura, nos quais a fadiga foi atingida com temperaturas internas de  $39,2^{\circ}\text{C}$  (LACERDA et al., 2005),  $39,8^{\circ}\text{C}$  (FULLER et al., 1998) e  $42^{\circ}\text{C}$  (WALTERS et al., 2000). No presente estudo, as temperaturas internas encontradas no momento da fadiga não representam risco para a manutenção da homeostase. Além disso, a taxa de variação de calor não foi diferente entre os grupos salina e metilatropina. Assim, provavelmente, a antecipação da fadiga causada pela metilatropina não esteve relacionada a um componente termorregulatório.

A temperatura corporal interna é uma resultante entre a produção e a dissipação de calor. Em ambiente de  $5^{\circ}\text{C}$  houve uma redução da temperatura interna a partir do 14º minuto no grupo salina e a partir do 12º no grupo metilatropina (gráfico 8.1). Em ambiente de  $12^{\circ}\text{C}$ , a temperatura interna não foi alterada durante o exercício (gráfico 8.2). A  $15^{\circ}\text{C}$ , a temperatura interna aumentou a partir do 8º minuto do grupo salina e a partir do 14º no grupo metilatropina (gráfico 8.3). A injeção de metilatropina nos VMH não alterou a temperatura interna em comparação ao grupo salina em nenhuma das temperaturas ambientes estudadas.

De acordo com esses resultados a temperatura interna apresentou uma alteração temporal entre os tratamentos. Em temperatura ambiente de 5°C, a temperatura interna dos animais metilatropina reduziu dois minutos anteriores à redução ocorrida no grupo salina. A 15°C, a injeção de metilatropina induziu o aumento da temperatura interna seis minutos após a elevação ocorrida no grupo salina. Esses resultados indicam uma redução nos mecanismos de produção de calor, considerando que a temperatura da pele da cauda dos animais não foi alterada após a injeção de metilatropina em ambiente frio.

Os VMH estão envolvidos em vias aferentes que desencadeiam a termogênese não induzida pelo tremor. NAGASHIMA et al. (2000) propõem que, em conjunto com os núcleos dorsomediais e com os núcleos paraventriculares, os VMH pertencem a uma via hipotalâmica excitatória que aumenta a atividade simpática para o tecido adiposo marrom. THORNHILL et al. (1994) observaram que o bloqueio dos VMH com anestésico local aboliu o aumento da temperatura do tecido adiposo marrom causada pela estimulação elétrica da área preótica medial. Além disso, ratos com lesões nos VMH foram incapazes de responder ao resfriamento da pele, enquanto os ratos controles aumentaram a frequência de estimulação aferente para o tecido adiposo marrom interescapular quando submetidos ao estímulo elétrico (NIIJIMA et al., 1994). No entanto, a função do tecido adiposo marrom durante o exercício, após a injeção de metilatropina nos VMH, ainda não foi avaliada.

O atraso sobre os mecanismos de produção de calor pode ter sido compensado pelo aumento da atividade simpática induzido pelo bloqueio colinérgico, estimulando a produção de calor por outras vias, uma vez que não houve diferença na temperatura interna dos grupos salina e metilatropina. Estudos em que os VMH foram lesionados verificaram a diminuição da taxa metabólica dos animais, o que contribuiu para o desenvolvimento da obesidade (VILBERG e KEESEY, 1984). Experimentos realizados por MONDA et al. (1997) e MONDA et al. (2001) confirmam que os VMH estão envolvidos nas respostas termogênicas induzidas por diferentes estímulos. As lesões dos VMH atenuaram o aumento da atividade dos neurônios eferentes que inervam o tecido adiposo marrom interescapular e, conseqüentemente, atenuaram o aumento da temperatura do tecido e da temperatura interna colônica induzidos pela injeção intracerebroventricular de prostaglandinas E1 ou de orexina A.

BAMSHAD et al. (1999) injetaram vírus da raiva atenuado no tecido adiposo marrom interescapular e verificaram que o núcleo paraventricular, a área preótica medial, o

hipotálamo lateral e o núcleo supra-quiasmático apresentaram mais neurônios infectados que os VMH. A estimulação do tecido adiposo marrom por essas outras áreas pode ter produzido o efeito compensatório na produção de calor.

No estudo de WANNER et al. (2007) a injeção de metilatropina amplificou o aumento da temperatura interna induzido pelo exercício físico. Além disso, houve uma redução nos mecanismos de dissipação de calor, confirmado pelo atraso de 2 minutos no aumento do fluxo sanguíneo para a cauda após a injeção do antagonista colinérgico.

No presente estudo, a temperatura da cauda dos animais reduziu após 2 minutos de exercício físico no grupo salina e no metilatropina nas três temperaturas ambientes estudadas. Quanto menor a temperatura ambiente, menor foi a temperatura da pele da cauda dos ratos no momento da fadiga. ROMANOVSKY (2007) afirma que a exposição ao frio induz uma redução na atividade elétrica de neurônios sensíveis ao calor presentes na área preótica. IMAI-MATSUMURA et al. (1988) relataram que a sensibilidade dos neurônios dos VMH ao estímulo térmico depende da condição em que os experimentos são realizados: *in vivo* ou *in vitro*. Nos experimentos *in vivo*, dos 44 eletrodos que receberam eletrodos, 7 foram sensíveis ao calor, 11 foram sensíveis ao frio e 26 não apresentaram resposta ao estímulo térmico aplicado na área preótica. Por outro lado, durante o experimento *in vitro*, dos 47 neurônios que receberam eletrodos, 27 foram sensíveis ao calor, 1 sensível ao frio e 19 não apresentaram resposta ao estímulo térmico. Como o resfriamento local estimulou menos neurônios *in vitro*, os neurônios dos VMH sensíveis ao frio estimulados pelo resfriamento da área preótica / hipotálamo anterior podem ter recebido estímulos neuronais, provenientes desse centro termorregulador, demonstrando mais uma vez a conexão funcional e anatômica entre os dois núcleos.

É bem definido que a via aferente para a termorregulação inicia por termossensores localizados na pele (MCCLESKEY, 1997). Os corpos de células bipolares estão localizados nos gânglios dorsais e seus axônios centrais projetam-se para o corno dorsal da medula espinhal onde fazem sinapses com neurônios monopolares. Os axônios desses neurônios secundários atravessam a linha média e ascendem no funículo lateral e são projetados diretamente para o complexo ventrobasal ipsolateral do tálamo, de onde os sinais são convergidos para o córtex somatossensório (ROMANOVSKY, 2007).

NAGASHIMA et al.(2000) descreveram as vias eferentes para a dissipação de calor pela vasculatura da pele da cauda, a partir da área preótica, a qual é o principal sítio termossensível do cérebro. As vias eferentes a partir da área preótica descendem através do feixe prosencefálico medial e duas regiões diferentes no mesencéfalo provavelmente possuem neurônios que controlam o tônus vasomotor da cauda. Uma das vias estende a partir da borda caudal do hipotálamo lateral para a formação reticular e para a substância cinza periaquedutal e a outra região é a área tegmental ventral. A primeira área contém neurônios que são estimulados pelo aquecimento da área preótica, enquanto a última contém neurônios que são inibidos. Dessa forma, neurônios sensíveis ao calor na área preótica provavelmente enviam sinais excitatórios para os neurônios vasodilatadores e sinais inibitórios para os neurônios inibitórios no mesencéfalo (ZHANG et al., 1997).

É possível que os neurônios dos VMH participem da conexão entre a área preótica e o feixe medial prosencefálico. Em ambiente frio, a sensação térmica possivelmente reduz a taxa de disparo de neurônios sensíveis ao calor e excita os neurônios sensíveis ao frio na área preótica. Teoricamente, o estímulo é enviado à área tegmental ventral, descendendo para a área peripiramidal, coluna intermediolateral, gânglio simpático e finalmente, para a vasculatura da pele, produzindo vasoconstrição (ROMANOVSKY, 2007).

É descrito que a transmissão colinérgica está envolvida no ajuste vasomotor da circulação na pele da cauda de ratos e, portanto participa dos mecanismos de dissipação de calor (PIRES et al, 2007; PRÍMOLA-GOMES et al, 2006). Injeções de agonistas colinérgicos apresentam aumentos na temperatura da pele da cauda de ratos (LIN et al, 1980; PRÍMOLA-GOMES et al, 2006). Esses dados sugerem que o aumento ocorreu devido ao aumento do fluxo sanguíneo cutâneo. A resistência periférica é modificada principalmente pelas alterações no raio dos vasos sanguíneos (BEVEGARD e STHEPHERD, 1967), sendo que a modulação do calibre dos vasos ocorre em grande parte por meio da atividade simpática eferente. A noradrenalina secretada pelas terminações nervosas simpáticas se liga aos receptores  $\alpha$ -adrenérgicos presentes no músculo liso dos vasos sanguíneos, causando vasoconstrição. Estes receptores quando ativados exercem sua função metabólica por meio da geração de segundos mensageiros e abertura de canais de iônicos (GOODMAN et al., 1984). Além disso, no rato, as alterações na temperatura

da pele da cauda refletem modificações no fluxo sanguíneo (O'LEARY et al., 1985; O'LEARY e JOHNSON, 1989; RAMAN et al., 1983).

No presente estudo a temperatura da pele da cauda não foi diferente entre os grupos salina e metilatropina. A temperatura ambiente é um dos principais estímulos para alterações na temperatura da pele da cauda dos ratos (MCCLESKEY, 1997). A exposição ao ambiente frio estimula o aumento do tônus vasomotor da cauda. Esse dado é confirmado pelo índice de dissipação de calor dos ratos apresentando valores próximos de 0, indicando uma proximidade à vasoconstrição máxima. A injeção de metilatropina nos VMH induziu um aumento nas concentrações de noradrenalina e adrenalina de ratos correndo a 80% do  $VO_{2max}$  (LIMA, 2000). O aumento nas concentrações de catecolaminas circulantes pode ter contribuído para o efeito vasoconstritor observado nos animais metilatropina. Entretanto, no presente estudo, o estímulo do frio sobressaiu ao estímulo simpático induzido pela metilatropina, uma vez que a temperatura da pele da cauda dos ratos não foi diferente em nenhuma das temperaturas ambientes estudadas. Dessa forma, o método utilizado não favorece a investigação da participação dos receptores colinérgicos na regulação dos mecanismos de dissipação de calor. Entretanto, os resultados da correlação entre o índice de dissipação de calor e a temperatura ambiente demonstram haver uma possível interferência do bloqueio colinérgico nos VMH sobre a dissipação de calor, uma vez que as variáveis não se correlacionaram, diferente do resultado encontrado no grupo salina (gráfico 11.2). Além disso, é provável que não tenha havido diferenças entre os ajustes cardiovasculares dos animais, uma vez que a resistência periférica, indicada pela temperatura da pele da cauda, não foi diferente entre os grupos estudados.

Nossos dados permitem afirmar que o ajuste da temperatura da pele da cauda foi primariamente regulado pela temperatura ambiente, uma vez que a temperatura da pele reduziu antes de qualquer alteração na temperatura interna.

### 5.2.3- Situação: Pós-exercício

A temperatura interna dos animais aumentou na situação pós-exercício em ambiente de 5°C. A temperatura interna dos ratos aumentou a partir do 5º minuto pós-exercício no grupo salina e a partir do 10º minuto no metilatropina. A temperatura interna retornou ao valor encontrado no início do exercício no 10º minuto no grupo salina e no 5º minuto no metilatropina em temperatura ambiente de 5°C. A 12°C e a 15°C, a temperatura interna dos ratos não foi diferente durante os 30 minutos pós-exercício nos grupos salina e metilatropina.

Os valores encontrados em temperatura ambiente de 5°C corroboram com a hipótese de uma redução na produção de calor induzida pela injeção de metilatropina nos VMH, demonstrada pelo atraso no aumento da temperatura interna. Entretanto, da mesma forma que durante o exercício, esse efeito parece ter sido compensado por outros mecanismos de produção/conservação de calor, uma vez que não foi diferente a temperatura interna entre os grupos salina e metilatropina. O mesmo não foi encontrado nas outras duas temperaturas ambientes devido à temperatura interna não ter reduzido durante o exercício físico.

Além disso, após o exercício, foi possível a execução de mecanismos comportamentais dos ratos que favorecem a conservação de calor e consequentemente, o aumento da temperatura interna. Isso pode ser confirmado pelo retorno da temperatura interna dos animais a valores encontrados no início do exercício em ambiente de 5°C.

Após a interrupção do exercício o metabolismo volta gradualmente aos valores basais, requerendo um determinado tempo que irá variar de acordo com a intensidade, duração e ambiente térmico em que o exercício é realizado. No retorno ao estado de repouso durante o período pós-exercício, os mecanismos de dissipação de calor são fundamentais numa situação em que a temperatura interna esteja aumentada. PRÍMOLA-GOMES (2004) mostrou que a injeção intracerebroventricular de fisostigmina na concentração de  $25 \times 10^{-3}$  M após a realização de 25 minutos de exercício em esteira rolante a 80% do  $VO_{2max}$  manteve a temperatura da pele da cauda dos ratos elevada quando comparada ao grupo salina devido ao aumento simpático vasoconstritor atenuando a redução da temperatura interna.



O presente estudo, a temperatura da pele da cauda dos ratos foi estimulada à vasoconstricção devido ao ambiente frio. Dessa forma, os mecanismos de dissipação de calor após o exercício físico e seu controle pelos VMH não puderam ser observados devido ao protocolo utilizado.

Por outro lado, após a realização do exercício a 15°C, a temperatura da pele da cauda pós-exercício reduziu após o 2º minuto de exposição ao frio no grupo salina e no metilatropina. No início do pós-exercício a temperatura da pele da cauda estava maior devido à produção de calor metabólico gerado pela contração muscular durante o exercício e à menor dissipação de calor para o ambiente em comparação com as outras situações, aumentando a temperatura interna e a taxa de variação de calor corporal. A partir do momento em que o comando central para o movimento é retirado, a geração de calor pela contração muscular é cessada e a temperatura da pele da cauda é reduzida devido a uma vasoconstricção simpática induzida pelo frio, na tentativa de conservar o calor corporal.

#### **5.2.4- Modelo integrado de estimulação simpática via os Núcleos Ventromediais do Hipotálamo**

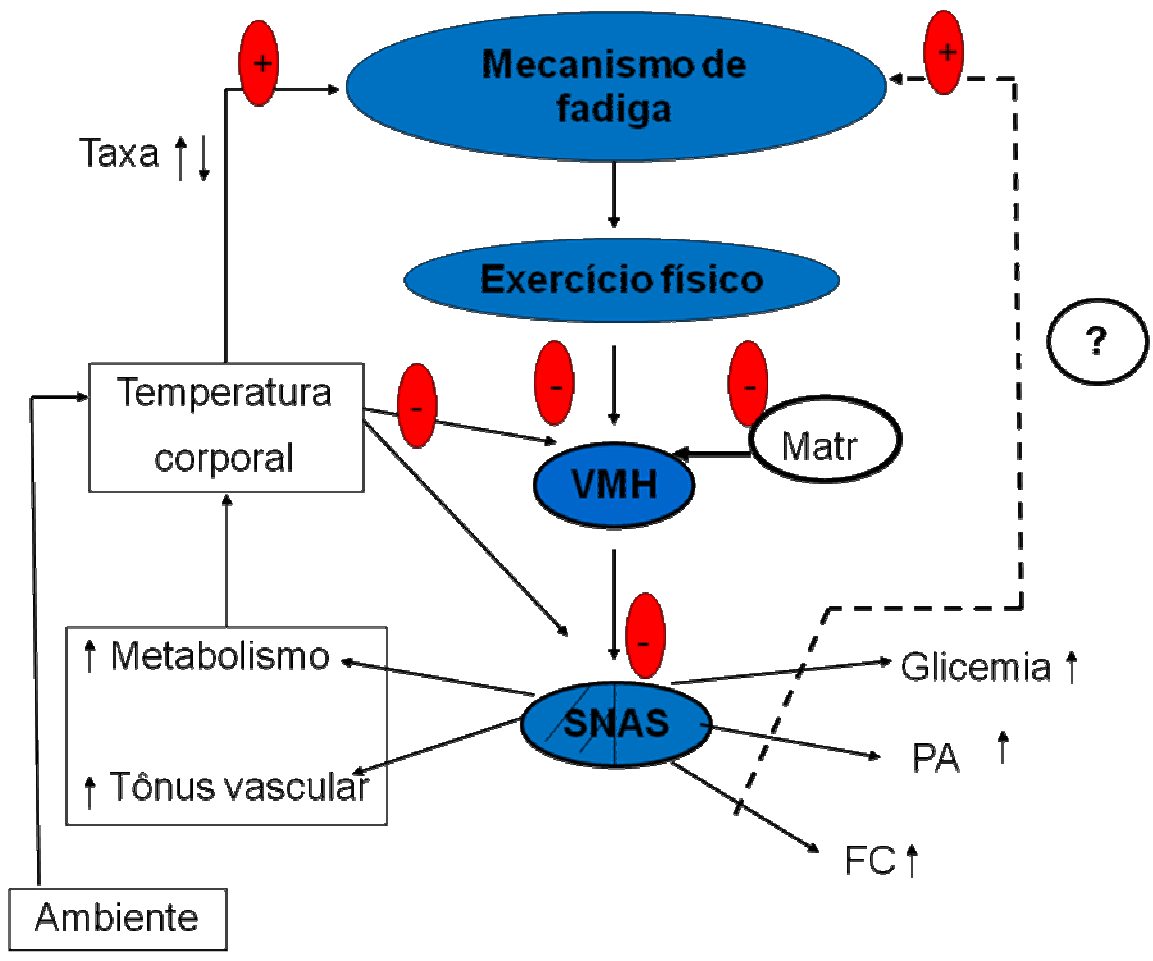
Em resumo, o protocolo deste estudo induziu três fontes de estimulação simpática via desinibição dos núcleos ventromedial do hipotálamo.

O exercício físico, separadamente, inibe a parte inibitória do núcleo que exerce uma função sobre o sistema nervoso simpático. Dessa forma, há uma ativação generalizada induzindo aumento de metabolismo, do tônus vascular, da glicemia, da pressão arterial e da frequência cardíaca. Essas respostas sistêmicas ampliadas comparadas à situação de repouso sinalizam ao comando central o quanto a atividade física representa em relação à capacidade máxima do sistema. Em iminência de rompimento da homeostase, instala-se a fadiga.

Da mesma forma, o ambiente frio inibe a parte inibitória dos VMH para aumentar a estimulação simpática e conseqüentemente provocar os ajustes sistêmicos. O aumento ou uma redução da temperatura corporal e por sua vez, da taxa de variação de calor sinaliza ao comando central para desenvolvimento da fadiga como mecanismo de defesa.

Esses dois fatores, exercício físico e ambiente frio, podem ter induzido um efeito combinado, somatório para ativação do sistema nervoso simpático.

A injeção de metilatropina nos VMH inibe a parte inibitória colinérgica do núcleo e dessa forma, aumenta a ativação simpática como nos dois fatores acima citados. Entretanto, a ativação simpática induzida pela injeção do bloqueador colinérgico não alterou as respostas termorregulatórias no presente estudo, provavelmente, devido a uma ativação sobreposta dos outros fatores, não produzindo efeitos adicionais. Ainda, o bloqueio dos VMH pela metilatropina parece exercer um efeito direto sobre o comando central, induzindo a fadiga antecipadamente.



## **6- CONCLUSÕES**

Em síntese, conclui-se que:

- A temperatura interna dos animais não é alterada durante o exercício físico a 20 m/min, 5% de inclinação, até a fadiga em uma temperatura ambiente de 12°C.

- Abaixo da termoneutralidade, os receptores colinérgicos muscarínicos dos núcleos ventromediais hipotalâmicos modulam o tempo de exercício até a fadiga independentemente da temperatura ambiente na qual a atividade é realizada.

## **7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- ALLEN, D.G.; WESTERBLAD, H.; LEE, J.A.; LANNERGREN, J.. *Role of excitation-contraction coupling in muscle fatigue*. Sports Medicine 13(2): 116-126, 1992.
  
- BAIRD, J.; LANG, W.J.. *Temperature responses in the rat and cat to cholinomimetic drugs injected into the cerebral ventricles*. European Journal of Pharmacology n.2, 1973.
  
- BALKAN, B.; STRUBBE, J.H.; BRUGGINK, J.E.; STEFFENS, A.B.. *Altered sympathetic control of nutrient mobilization during physical exercise after lesions in the VMH*. Am J. Physiol. 260: R368-R372, 1991.
  
- BANSHAD, M.; SONG, C.K.; BARTNESS, T.J.. *CNS origins of sympathetic nervous system outflow to brown adipose tissue*. American journal of Physiology, 276 (45): R1569-R1578, 1999.
  
- BEVEGARD, B.S.; STHEPHERD, J.T.. *Regulation of the circulation during exercise in man*. J. Physiology. 47: 178-184, 1967.
  
- BRIESE, E. *Normal body temprature of rats: the setpoint controversy*. Neurosc. Biobehav. Rev., v.22, n.3, 1998.
  
- BRITO, N. A., M. N. BRITO, I. C. KETTELHUT, AND R. H. MIGLIORINI. *Intra-ventromedial hypothalamic injection of cholinergic agents induces rapid hyperglycemia and gluconeogenesis activation in fed, conscious rats*. Brain Res., 6: 339-342, 1993.
  
- BROOKS, G; WHITE, T.P. *Determination of metabolic and heart rate responses of rats to treadmill exercise* J. Appl. Physiol. 45 (6): 1009-1015, 1978.
  
- CANTERAS, N.S. *Sistema Límbico*. In: AIRES, M.M. (org.). Fisiologia. 2<sup>a</sup>.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.315-321. 1999
  
- CARDER, M.; MCNAMEE, R.; BEVERLAND, I.; ELTON, R.; COHEN, G.R.; BOYD, J.; AGIUS, R.M.. *The lagged effect of cold temperature and wind chill on*

*cardiorespiratory mortality in Scotland*. Occupational and Environmental Medicine v.62:702-710, 2005.

- CLARK, R.P.; EDHOLM, O.G. *Man and his thermal environment*. 1<sup>st</sup>.ed. London: Edward Arnold, 1985

- COIMBRA, C. C., AND R. H. MIGLIORINI. *Cold induced free fatty acid mobilization is impaired in rats with lesions in preoptic area*. Neuroscience Lett., 88: 1-5, 1988.

- FERREIRA, M. L., U. MARUBAYASHI, AND C. C. COIMBRA. *The medial preoptic area modulates the increase in plasma glucose and free fatty acid mobilization induced by acute cold exposure*. Brain Res. Bull., 49(1): 189-193, 1999.

- FRUTH, J.M.; GISOLFI, C.V.. *Work-heat tolerance in endurance-trained rats*. Journal of Applied Physiology, 54 (1): 249-253, 1993.

- FULLER, ANDRÉA; CARTER, RODERICK N.; MITCHELL, DUNCAN.. *Brain and abdominal temperatures at fatigue in rats exercising in the heat*. Journal of Applied Physiology. v 84 (3), 1998.

- GALLOWAY, S.D.R.; MAUGHAN, R.J. *Effects of ambient temperature on the capacity to perform prolonged exercise in man*. Medicine Science in Sports and Exercise. v.29 (9) p.1240-1249. 1997.

- GILBERT, T.M.; BLATTEIS, C.M.. *Hypothalamic thermoregulatory pathways in the rat*. Journal of Applied Physiology 43(5): 770-777, 1977.

- GISOLFI, CARL V.; LAMB, DAVID R.; NADEL, ETHAN R.. *Exercise, heat and thermoregulation – Perspectives in exercise science and sports medicine*. V6-Cooper Publishing Group, 1993.

- GLEESON, M. *Temperature regulation during exercise*. International Journal sports Medicine. v 19 – suppl. 2- s96-99, 1998.



- GONZÁLEZ-ALONSO, J.; TELLER, C.; ANDERSEN, S.L.; JENSEN, F.B.; HYLDIG, T.; NIELSEN, B. *Influence of body temperature on development of fatigue during prolonged exercise in the heat.* J Appl Physiol. v.86. n.3. p.1032-1039. 1999.
  
- GORDON, C.J. *Temperature regulation in laboratory rodents.* Cambridge: Cambridge University Press, 1993.
  
- GUIMARÃES, M.T.; SILAMI-GARCIA, E. *Water replacement and thermoregulatory responses during prolonged exercise.* Brazilian Journal of Medical and Biological Research. 1993.
  
- HARRI, M.; KUUSELA, P.; OKSANEN-ROSSI, R.. *Temperature responses of rats to treadmill exercise and the effect of thermoregulatory capacity.* Acta Physiologica Scandinavica v.115: 79-84, 1982.
  
- HAYMES, E.M.; WELLS, C.L. *Environment and human performance.* 1<sup>st</sup>.ed. Champaign: Human Kinetics Publishers, 1986.
  
- HUBBARD, R.W.; MATTHEW, W.T.; LINDUSKA, J.D.; CURTIS, F.C.; BOWERS, W.D.; LEAV, I.; MAGER, M.. *The laboratory rat as a model for hyperthermic syndromes in humans.* American Journal of Physiology, 231 (4): 1119- 1123, 1976.
  
- IGUCHI A., M. GOTOH, H. MATSUNAGA, A. YATOMI, A. HONMURA, M. YANASE, AND N. SAKAMOTO. *Mechanism of central hyperglycemic effect of cholinergic agonista in fasted rats.* Am. J. Physiol. 251 (Endocrinol. Metab. 14): E431-e437, 1986.
  
- IGUCHI, A., Y. KUNOH, M. GOTOH, H. MIURA, K. UEMURA, T. TAMAGAWA, AND N. SAKAMOTO. *Relative contribution of nervous system and hormones to CNS-mediated hyperglycemia is determined by the neurochemical specificity in the brain.* Physiol. Behav., 50(5): 1019-1025, 1991.

- IMAI-MATSUMURA K, MATSUMURA K, TSAI CL, AND NAKAYAMA T. *Thermal responses of ventromedial hypothalamic neurons in vivo and in vitro*. Brain Res 445: 193–197, 1988.
  
- ISHIWATA, T.; HASEGAWA, H.; YASUMATSU, M.; AKANO, F.; YAZAWA, T.; OTOWAKA, M.; YASUTSUGU, A. *The role of preoptic area and anterior hypothalamus and median raphe nucleus on thermoregulatory system in freely moving rats*. Neuroscience Letters. v.306- 126-128, 2001.
  
- ISHIWATA, T.; HASEGAWA, H.; YAZAWA, T.; OTOWAKA, M.; YASUTSUGU, A. *Functional role of preoptic area and anterior hypothalamus in thermoregulation in freely moving rats*. Neuroscience Letters. v.325, 167-170, 2002.
  
- KANDEL, E.R.; SCHWARTZ, J.H.; JESSEL, T.M. *Principles of neural science*. McGraw-Hill, New York, United States, 2000.
  
- KAYSER, B.. *Exercise starts and ends in the brain*. European Journal of Applied Physiology. v. 90 n.3-4 p. 411-419, 2003.
  
- KIRKPATRICK, W. E., AND P. LOMAX. *The effect of atropine on the body temperature of the rat following systemic and intracerebral injection*. Life Sci., 6: 2273-2278, 1967.
  
- KOPIN, I. J. *Definition of stress and sympathetic neuronal responses*. Annals New York Academy of Sciences, 1991.
  
- LACERDA, A.C.R.; MARUBAYASHI, U.; COIMBRA, C.C.. *Effect of intracerebroventricular injection of atropine on metabolic responses during exercise in untrained rats*. Brain Research Bulletin, 67 91-2): 110-116, 2005.
  
- LEE, DAE TAEK; HAYMES, EMILY M.. *Exercise duration and thermoregulatory responses after whole body precooling*. Journal Applied Physiology v.79 (6): 1971-1976, 1995.

- LI, J.; BREZENOFF, H.E.; TKACS, N.C.. *Identification of pressor regions activated by central cholinergic stimulation in rat brain*. European journal of Pharmacology, 337 92-3): 227-233, 1997.
  
- LIMA, N. R. V., C. C. COIMBRA, AND U. MARUBAYASHI. *Effect of intracerebroventricular injection of atropine on metabolic responses during exercise in untrained rats*. Physiol. Behav., 64(1): 69-74, 1998.
  
- LIMA, N.R.V. Efeitos da metilatropina nos núcleos ventromediais do hipotálamo sobre as alterações metabólicas e cardiovasculares e no tempo total de exercício em ratos não treinados. Tese de doutorado em Fisiologia apresentada ao Departamento de Fisiologia e Biofísica do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, 2000.
  
- LIMA, N.R.V.; PEREIRA, W.; REIS, A.M.; COIMBRA, C.C.; MARUBAYASHI, U. *Prolactin release during exercise in normal and adrenalectomized untrained rats submitted to central cholinergic blockade with atropine*. Hormones and Behavior. V.40. p.526-532. 2001.
  
- LIN, M. T., H. C. WANG, A. CHANDRA. *The effects on thermoregulation of intracerebroventricular injections of acetylcholine, pilocarpine, physostigmine, atropine, and hemicholinium in the rats*. Neuropharmacology, 19: 561-565, 1980.
  
- LUITEN PG, ROOM P. *Interrelations between lateral dorsomedial and ventromedial hypothalamic nuclei in the rat*. Brain Res 190: 321-332, 1980.
  
- MAGOUN, H. W; HARRISSON, F; BROBECK J. R.; RANSOM, S. W.. *Ativation of heat loss mechanisms by local heating of the brain*. Journal Neurophysiology v.01, 1938.
  
- MAKINEN, T.; RINTAMÄKI, H.; HOHTOLA, E.; HISSA, R. *Energy Cost and Thermoregulation of Unrestrained Rats During Exercise in the Cold*. Comparative Biochemistry Physiology. v.114A , n.1, p. 57-63, 1996.

- MATTHEW, C. B., R. P. FRANCESCONI, AND R. W. HUBBARD. *Physostigmine: dose-response effects on endurance and thermoregulation during exercise*. Life Sci. 50: 39-44, 1992.
  
- MATTHEW, C.B.. Ambient temperature effects on thermoregulation and endurance in anticholinesterase-treated rats. Life Sciences, 52 (16): 1343-1349, 1993.
  
- MCCLESKEY. E.W. *Thermoreceptors: recent heat in thermosensation*. Current Biology 7:R679-R681,1997.
  
- MCLAREN, D.P.M.; GIBSON, H.; PARRY-BILLINGS, M.; EDWARDS, R.H.T.. *A review of metabolic and physiological factors in fatigue*. Exercise and Sports Review 17: 29-66, 1989.
  
- MIGLIORINI, R. H., M. A. R. GAROFALO, J. E. S. ROSELINO, AND I. C. KETTELHUT. *Rapid activation of gluconeogenesis after intracerebroventricular carbachol*. Am. J. Physiol. 257 (Endocrinol. Metab. 20): E486-E490, 1989.
  
- MONDA, M.; SULLO, A.; DE LUCCA, V.. Lesions of ventromedial hypothalamic reduce postingestional thermogenesis. Physiology and Behavior, 61 (5): 687-691, 1997.
  
- MONDA M, SULLO A, DE LUCA V, AND VIGGIANO A. *Ibotenate lesion of the ventromedial hypothalamus lowers hyperthermic effects of prostaglandin E1*. Physiol Res 50: 321-326. 2001.
  
- MORIMOTO A, MURAKAMI N, ONO T, WATANABE T, AND SAKATA Y. *Stimulation of ventromedial hypothalamus induces cold defense responses in conscious rabbits*. Am J Physiol 250: R560-566, 1986.
  
- MURAKAMI, N.; AKIMORIMOTO, A.. *Metabolic mapping of the rat brain involved in thermoregulatory responses using the [14c]2-deoxyglucose technique*. Brain Research. v. 246. p.137-140, 1982.

- MYERS, T.D.; YACSH, T.L.. *Control of body temperature in the unanaesthetized monkey by cholinergic and aminergic systems in the hypothalamus.* J. Physiol. 202: 483 – 500, 1969.
  
- NAGASHIMA K, NAKAI S, TANAKA M, AND KANOUSE K. *Neuronal circuitries involved in thermoregulation.* Auton Neurosci 85: 18-25. 2000.
  
- NAKAO, H..*Emotional behavior produced by hypothalamic stimulation.* American Journal of Physiology, 194 (2): 411-418, 1958.
  
- NARITA, K., T. YOKAWA, M. NISHIHARA, AND M. TAKAHASHI. *Interaction between excitatory and inhibitory aminoacids in the ventromedial nucleus of the hypothalamus in inducing hyperrunning.* Brain Res., 603: 243-247, 1993.
  
- NARITA, K., M. NISHIHARA, M. TAKAHASHI. *Concomitant regulation of running activity and metabolic change by ventromedial nucleus of the hypothalamus.* Brain Res., 642: 290-296, 1994.
  
- NARITA, K.; MURATA, T.; HONDA, K.; NISHIHARA, M.; HIGUSHI, T.; TAKAHASHI, M.. *Efferent pathways involved in running activity originate in the ventromedial hypothalamus of the rat.* Annals New York Academy of Sciences: 556-559, 1998.
  
- NEWSHOLME, E. A.;BLOMSTRAND, E.;EKBLUM, E.. *Physical and mental fatigue: metabolic mechanisms and importance of plasma amino acids.* Br. Med. Bull. v.48. p: 477-495, 1992.
  
- NIELSEN, B.; STRANGE, S.; CHRISTENSEN, N.J.; WARBERG, J.; SALTIN, B. *Acute and adaptive responses in humans to exercise in a warm, humid environment.* Eur. J. Physiol. v.434. p.49-56. 1997.
  
- NIIJIMA A, ROHNER-JEANRENAUD F, AND JEANRENAUD B. *Role of ventromedial hypothalamus on sympathetic efferents of brown adipose tissue.* Am J Physiol 247: R650-654, 1984.

- NOAKES TD. *Physiological models to understand exercise fatigue and the adaptations that predict or enhance athletic performance*. Scand J Med Sci Sports 10:123-45. Review. 2000.
  
- NYBO L, AND NIELSEN B. *Hyperthermia and central fatigue during prolonged exercise in humans*. J Appl Physiol. 91: 1055-1060 , 2001.
  
- O'LEARY, D. S., J. M. JOHNSON, AND W. FRED TAYLOR. *Mode of neural control mediating rat tail vasodilation during heating*. J. Appl. Physiol.,59(5): 1533-1538, 1985.
  
- O'LEARY DS AND JOHNSON JM. *Baroreflex control of the rat tail circulation in normothermia and hyperthermia*. J Appl Physiol 66: 1234-1241, 1989.
  
- OOTSUKA, Y.; MCALLEN, R.M.. *Comparison between two sympathetic pathways activated in cold defense*. Am. Journal Physiol. 291:R589-R595, 2006.
  
- OWENS, N. C.; OOTSUKA, O.; KANOSUE, K.; MCALLEN, R. M. *Thermoregulatory control of sympathetic fibres supplying the rat's tail*. Journal of Physiology, v. 543.(3): 849- 858, 2002.
  
- PAXINOS, G.; WATSON, C.. *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Academic Press INC., San Diego, Califórnia, 1986.
  
- PIRES, W.; WANNER, S.P.; LA GUARDIA, R.B.; RODRIGUES, L.O.C.; SILVEIRA, S.A.; MARUBAYASHI, U.; COIMBRA, C.C.; LIMA, N.R.V..*Intracerebroventricular physostigmine enhances blood pressure and heat loss in running rats*. Journal of Physiology and Pharmacology,xxxxxxx, 2006.
  
- PRÍMOLA-GOMES, T.N.; WANNER, S.P.; SILVEIRA, S.A.; RODRIGUES, L.O.C.; MARUBAYASHI, U.; COIMBRA, C.C.; LIMA, N.R.V. *Efeitos da injeção intracerebroventricular de fisostigmina (icv-fis) sobre a termorregulação pós-exercício*

*em ratos*. In: Caderno de Resumos da XIX Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental. São Paulo: Instituto de Ciências Biológicas – USP. v.1. p.146-146. 2004.

- PRIMOLA-GOMES, T.N.; PIRES, W., RODRIGUES, L.O.C.; COIMBRA, C.C.; MARUBAYASHI, U., LIMA, N.R.V.. *Activation of the central cholinergic pathway increases post-exercise tail heat loss in rats*. Neurosc. Lett. 413 (1): 1-5, 2007.

- RAMAN, E.R.; ROBERTS, M.F.; VANHUYSE, V.J.. *Body temperature control of rat tail blood flow*. Am. J. Physiol. 245: R426-R432, 1983.

- RAND, R. P.; BURTON A. C.; ING T. *The tail of the rat in temperature regulation and acclimatization*. Can. J. Physiol. Pharmacol., 43: 257-267, 1965.

- RAO, Z.R.; YAMANO, M.; WANAKA, A.; TATEHATA, T.; SHIOSAKA, S.; TOHYAMA, M.. *Distribution of cholinergic neurons and fibers in the hypothalamus of the rat using choline acetyltransferase as a marker*. Neuroscience, 20 (93): 923-934, 1987.

- REILLY, T; CABLE, N.T. *Thermoregulation – Kinanthropometry and exercise physiology laboratory manual: tests, procedures and data*. E & FN Spon, 1996.

- RICARDO, J. A.. Hypothalamic pathways involved in metabolic regulatory function as identified by track-tracing methods. In: Advances in metabolic disorders: CNS regulation of carbohydrate metabolism. Edited by A. J. Szabo, N.Y. Academic Press, vol. 10, 1-13, 1983.

- RODRIGUES, L.O.C.; SILAMI-GARCIA, E. *Fadiga: falha ou mecanismo de proteção*. Temas Atuais III: Educação Física e Esportes. Belo Horizonte: Editora Health, p.29-48. 1998.

- RODRIGUES, L.O.C.; SILAMI-GARCIA, E.; SOARES, D.D. *Fisiologia da Termorregulação: conceitos básicos*. In: Novos Conceitos em Treinamento Esportivo, Publicações INDESP. Série Ciência do Esporte. p.7-25. 1999.

- RODRIGUES, L.O.C.; SILAMI-GARCIA, E.; LIMA, N.R.V.; PRADO, L.S.; SORAES, D.D.. *Exercício, calor e hidratação: algumas questões em estudo na UFMG* – in: Temas Atuais VII em Educação Física e Esportes. 29-48. Editora Health, 2002.
- RODRIGUES, L. O. C.; OLIVEIRA, A.; LIMA, N. R. V.; MACHADO-MOREIRA, C.A.. *Heat storage rate and acute fatigue in rats*. Brazilian Journal of Medical and Biological Research. v.36, 2003.
- RODRIGUES, A.G.; LIMA, N.R.; COIMBRA, C.C.; MARUBAYASHI, U.. *Intracerebroventricular physostigmine facilitates heat loss mechanisms in running rats*. Journal of Applied Physiology, 97(1): 333–338, 2004.
- ROMANOVSKY, A.A.; IVANOV, A.I.; SHIMANSKY, Y.P. *Selected contribution: Ambient temperature for experiments in rats: a new method for determining the zone of thermal neutrality*. J. Appl. Physiol. v.92. p.2667-2679. 2002.
- ROMANOVSKY, A.A.. *Thermoregulation: some concepts have changed. Functional architecture of the thermoregulatory system*. Am Journal Physiology 292: R37-R46, 2007.
- ROWELL, L.B.; WYSS, C.R.; BRENGELMANN, G.L. *Sustained human skin and muscle vasoconstriction with reduced baroreceptor activity*. J. Applied Physiol. v 34 - 639, 1973.
- RUFFIN, M.; NICOLAIDIS, S.. *Electrical stimulation of the ventromedial hypothalamus enhances both fat utilization and metabolic rate that precede and parallel the inhibition of feeding behavior*. Brain Research. 846 (1): 23-29, 1999.
- SHELLOCK, F.G.; RUBIN, S.A. *Temperature regulation during treadmill exercise in the rat*. J. Appl. Physiol. v.57. n.6. p. 1872-1877. 1984.



- SOARES, D.D.; LIMA, N.R.V; COIMBRA, C.C.; MARUBAYASHI, U.. *Evidence that tryptophan reduces mechanical efficiency and running performance in rats.* Pharmacology and Biochemistry Behavior, v.74, n. 2, p. 357-362, 2003.
  
- SOARES, D.D.; LIMA, N.R.V; COIMBRA, C.C.; MARUBAYASHI, U. *Intracerebroventricular tryptophan increases heating and heat storage rate in exercising rats.* Pharmacology and Biochemistry Behavior, v.78, n. 2, p. 255-261, 2004.
  
- SONNE, B; GALBO, H.. *Simultaneous determinations of metabolic and hormonal responses, heartrate, temperature and oxygen uptake in running rats.* Acta. Physiol. Scand.. v. 109 p.201-209, 1980.
  
- SUDO, M.; MINOKOSHI, Y.; SHIMAZU, T.; *Ventromedial hypothalamic stimulation enhances peripheral glucose uptake in anesthetized rats.* Am. J. Physiol. 261: E298-E303, 1991.
  
- THAKAHASHI, A; IKARASHI, Yasushi; KISHI, Eiko; MARUYAMA, Yuji.. *Opposite regulation of body temperature by cholinergic input to the paraventricular nucleus and supraoptic nucleus in rats.* Brain Research 909: 102-111, 2001.
  
- THORNHILL, J. A., A. JUGNAUTH, AND I. HALVORSON. Brown adipose tissue thermogenesis evoked by medial preoptic stimulation is mediated via the ventromedial hypothalamic nucleus. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 72: 1042-1048, 1994.
  
- UNAL, C.B.; DEMIRAL, Y.; ULUS, I.H.. *The effects of choline on body temperature in conscious rats.* European Journal of Pharmacology, 363(2-3): 121–126, 1998.
  
- VILBERT, T.R.; KEESEY, R.E.. *Reduced energy expenditure after ventromedial hypothalamic lesions in female rats.* American Journal of Physiology, 247 (16): R183-R188, 1984.

- VISSING, V.; WALLACE, J.L.; SCHEURINK, A.J.; GALBO, H.; STEFFENS, A.B.. *Ventromedial hypothalamic regulation of hormonal and metabolic responses to exercise*. American Journal of Physiology 256(25): R1019–1026, 1989.
  
- WALTERS, T.J.; RYAN, K.L.; TATE, L.M.; MASON, P.A. *Exercise in the heat is limited by a critical internal temperature*. J. Appl. Physiol. 89; p.799-806, 2000.
  
- WANNER, S. P.; GUIMARÃES, J. B.; PRÍMOLA-GOMES, T. N.; LIMA, N.R.V.; RODRIGUES, L. O. C. *Heat storage rate in rats during exercise in a cold environment*. In: Anais do XXXVIII Congresso da Sociedade Brasileira de Fisiologia & XXI Congresso da Associação Latinoamericana de Ciências Fisiológicas. São Paulo: Sociedade Brasileira de Fisiologia. v.1. p.355-355. 2003.
  
- WANNER, S.P. *O exercício físico induz ajustes termorregulatórios e cardiovasculares que são mediados pela neurotransmissão colinérgica nos núcleos ventromediais hipotalâmicos*. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Educação Física da Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Educação Física / Área de concentração: Treinamento esportivo, 2006.
  
- WANNER, S.P.; GUIMARÃES, 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 (*in press*), 2007.
  
- WEBB P. *The physiology of heat regulation*. Am J Physiol 268: R838-850. 1995.
  
- WILSON, N. C.; GISOLFI, C.V; FARBER, J.; HINRICHS, D.K. *Colonic and Tail-skin temperature responses of the rat at selected running speeds*. Journal of Applied Physiol.: Respirat. Environ. Exerc. Physiol. 44 (4): 571-575, 1978.

- YOKAWA, T., D. MITSUSHIMA, C. ITOH, H. KONISHI, K. SHIOTA, AND M. TAKAHASHI. *The ventromedial nucleus of the hypothalamus outputs lon-lasting running in rats.* *Physiol. Behav.*, 46: 713-717, 1989.
  
- YOKAWA, T., K. SHIOTA, AND M. TAKAHASHI. *Hyper-running activity originating from the hypothalamus is blocked by GABA.* *Physiol. Behav.*, 47: 1261-1264, 1990.
  
- ZHANG, Y.H.; HOSONO, T.; YANASE-FUJIWARA, M.; CHEN, X.M.; KANOUSE K. *Effect of midbrain stimulation on thermoregulatory vasomotor response in rats.* *J Physiol* 503: 177-186. 1997.





UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
COMITÊ DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL  
- CETEA -

**CERTIFICADO**

Certificamos que o **Protocolo nº 98/2006**, relativo ao projeto intitulado "**Estudo do exercício físico e da temperatura ambiente sobre a atividade termogênica dos núcleos ventromediais hipotalâmicos**", que tem como responsável **Nilo Resende Viana Lima**, está de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal, adotados pelo **Comitê de Ética em Experimentação Animal (CETEA/UFMG)**, tendo sido aprovado na reunião de **20/ 09/2006**.

Este certificado expira-se em **20/ 09 / 2011**.

**CERTIFICATE**

We hereby certify that the **Protocol nº 98/2006**, related to the project entitled "**Study of physical exercise and environment temperature on thermogenic activity of hypothalamic ventromedial nucleus**", under the supervision of **Nilo Resende Viana Lima**, is in agreement with the Ethical Principles in Animal Experimentation, adopted by the **Ethics Committee in Animal Experimentation (CETEA/UFMG)**, and was approved in **September 20, 2006**.

This certificate expires in **September 20, 2011**.

Belo Horizonte, 25 de Setembro de 2006.

**Prof. Humberto Pereira Oliveira**  
**Presidente do CETEA/UFMG**

Universidade Federal de Minas Gerais  
Prédio da Reitoria – Campus Pampulha  
Avenida Antônio Carlos, 6627 - 7 Andar, Sala 7018  
31270-901 - Belo Horizonte, MG - Brasil  
Telefone: (31) 3499-4592 – Fax: (31) 3499-4027  
[www.ufmg.br/prpq/cetea](http://www.ufmg.br/prpq/cetea) - [cetea@prpq.ufmg.br](mailto:cetea@prpq.ufmg.br)

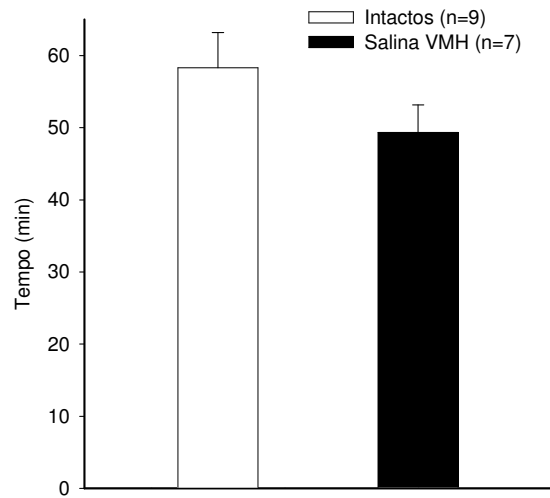


Gráfico 16.1: Tempo total de exercício de ratos intactos vs ratos com cânulas crônicas bilaterais nos VMH em temperatura ambiente de 12°C.

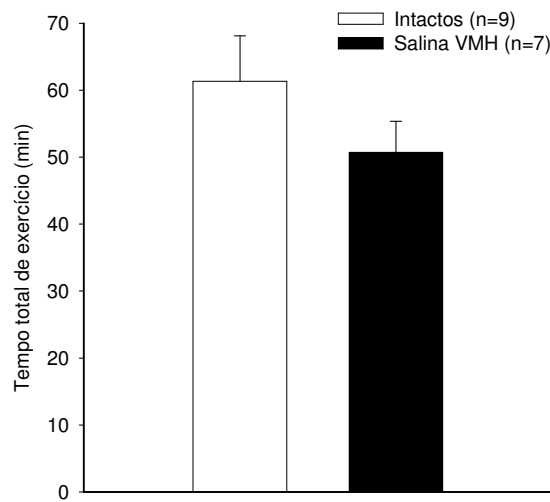


Gráfico 16.2: Tempo total de exercício de ratos intactos vs ratos com cânulas crônicas bilaterais nos VMH em temperatura ambiente de 15°C.