

Roberta Maria Miranda Ribeiro

**EFEITO DA INIBIÇÃO DE
RECEPTORES DOPAMINÉRGICOS CENTRAIS
SOBRE OS MECANISMOS
TERMORREGULATÓRIOS E FADIGA EM RATOS**

Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional da UFMG
Universidade Federal de Minas Gerais
Belo Horizonte
2009

Roberta Maria Miranda Ribeiro

**EFEITO DA INIBIÇÃO DE
RECEPTORES DOPAMINÉRGICOS CENTRAIS
SOBRE OS MECANISMOS
TERMORREGULATÓRIOS E FADIGA EM RATOS**

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

Orientadora: Profa. Dra. Danusa Dias Soares

Co-orientador: Prof. Dr. Cândido Celso Coimbra

Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional da UFMG
Universidade Federal de Minas Gerais

Belo Horizonte

2009



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



Dissertação intitulada “**Efeito da inibição de receptores dopaminérgicos centrais sobre os mecanismos termorregulatórios e fadiga em ratos**”, de autoria da mestranda Roberta Maria Miranda Ribeiro, defendida no dia 11 de dezembro de 2009, na Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional, da Universidade Federal de Minas Gerais, e submetida à banca examinadora composta pelos professores:

Profa. Dra. Danusa Dias Soares
Departamento de Educação Física
Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional
Universidade Federal de Minas Gerais

Prof. Dr. Cândido Celso Coimbra
Departamento de Fisiologia e Biofísica
Instituto de Ciências Biológicas
Universidade Federal de Minas Gerais

Profa. Dra Ana Cristina Rodrigues Lacerda
Departamento de Fisioterapia
Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri

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

Belo Horizonte, 11 de dezembro de 2009

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

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela presença constante em minha vida, guiando os meus passos.

Ao meu marido, pelo amor, carinho, compreensão, apoio e renúncia durante todo o período do mestrado.

Aos meus pais, pelo amor e dedicação durante toda a vida, por sonharem os meus sonhos, pelas orações e por me apoiarem sempre.

Aos meus irmãos, cunhados e cunhadas, tias, primos e primas. Pelo apoio constante e pela compreensão da minha distância.

Aos meus sobrinhos queridos, Nícolas, Arthur e Isabelle, pela alegria de vê-los crescer.

À minha sogra, Maria Felícia Aguiar e vovó Dulce, por me apoiarem desde o início do meu envolvimento no mestrado e pelas orações.

Às minhas amigas Juliana Magna Martins, Marcela Campos, Marcélia Mayra Prado e Fernanda Trópia Costa pela imensa amizade, compreensão e incentivo.

À professora Dr^a Danusa Dias Soares que me acolheu de braços abertos e a oportunidade de iniciar o meu trabalho acadêmico. Exemplo de pesquisadora e mestre, carinho e dedicação com seus alunos. Agradeço pela paciência em me ensinar.

Ao professor Cândido Celso Coimbra, pela contribuição na realização deste trabalho, dedicação e disponibilidade.

Aos professores do laboratório de fisiologia do exercício (Lafise) pelo exemplo de trabalho em equipe, dedicação à pesquisa realizada com ética e aos alunos. A persistência dos professores é um exemplo constante para os alunos. Em especial ao professor Dr. Nilo Resende Viana Lima, exemplo como pesquisador e orientações para este trabalho e para a minha vida como docente.

Aos amigos do Lafise...

Àqueles que me acolheram e me ensinaram os primeiros passos: Letícia Maria Cordeiro, Samuel Penna Wanner, Juliana Bohnen Guimarães, Roberta Borges La Guardia. Juliana, que além de me acolher, auxiliou-me nas análises dos dados. Letícia meu agradecimento especial, também pela oportunidade em poder participar da coleta de dados do seu trabalho e pelas experiências compartilhadas.

Aqueles que compartilharam de todas as etapas do mestrado: Michele Macedo Moraes e Francisco Teixeira Coelho. Meus irmãos do mestrado, que desde o início acompanharam as alegrias, coletas de dados, análises, ansiedade, dúvidas e perspectivas.

Aquele que me ensinou a realizar os procedimentos cirúrgicos e colheita dos dados: Washington Pires, exemplo de serenidade e paciência.

À Débora Romualdo Lacerda, Milene Malheiros Lima e Renata Lane de Freitas Passos pela amizade, carinho e partilhas.

A todos os demais companheiros de laboratório, pelas experiências compartilhadas e momentos de descontração: Luiz Alexandre Medrado de Barcellos, Jacqueline C. Freitas Silva, Ázula Narayama, Aline Gomes, Tatiana Ramos Fonseca, Reinaldo Teles Paulinelli Júnior, Cleitiana Gonçalves da Fonseca, Ana Cláudia Alves Serafim, Thiago Teixeira Mendes, Lucas Mortman, Moisés Vieira de Carvalho, Luciana Madeira, Jacqueline de Paula Viveiros, João Paulo Vendeles Pinto, Kenya Paula Moreira, Diego de Alcantara Borba, João Batista Ferreria Junior, Ângelo Ruediger Pisani Martini, Alison Eduardo Pereira Silva, Bernardo Oliveira, Hailander Krueel, Guilherme Passos Ramos, Lucas Henrique Martins Oaks, Lucas Leite Lima, Gilvan Ferreira Vaz, Patrícia da Conceição Rocha Rabelo, Willian Damasceno.

Aos amigos do laboratório de Endocrinologia e metabolismo pelo acolhimento e companheirismo, em especial à Laura Hora Rios Leite, Gisele Vieira Rodovalho, Daniela Rocha Costa Fóscolo, Daniel Carvalho de Lima, Frederico Sander Mansur Machado.

Às técnicas de laboratório Janine Costa Ivo e Patrícia Andrade Guimarães Mitre pela qualidade do trabalho e disponibilidade de sempre.

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

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

Às secretárias do colegiado de pós-graduação em Ciências do Esporte, Karen e Eni pela atenção e dedicação.

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

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

Tocando em Frente

(Almir Sater e Renato Teixeira)

*Ando devagar porque já tive pressa
Levo esse sorriso porque já chorei demais
Hoje me sinto mais forte, mais feliz quem sabe
Só levo a certeza de que muito pouco eu sei
Eu nada sei*

*Conhecer as manhas e as manhãs,
O sabor das massas e das maçãs,
É preciso amor pra poder pulsar,
É preciso paz pra poder sorrir,
É preciso a chuva para florir*

*Penso que cumprir a vida seja simplesmente
Compreender a marcha e ir tocando em frente
Como um velho boiadeiro levando a boiada
Eu vou tocando os dias pela longa estrada eu vou
Estrada eu sou*

*Conhecer as manhas e as manhãs,
O sabor das massas e das maçãs,
É preciso amor pra poder pulsar,
É preciso paz pra poder sorrir,
É preciso a chuva para florir*

*Todo mundo ama um dia.
Todo mundo chora
Um dia a gente chega
e no outro vai embora*

*Cada um de nós compõe a sua história
Cada ser em si carrega o dom de ser capaz
De ser feliz*

RESUMO

O presente estudo teve por objetivo investigar os efeitos do bloqueio dos receptores D_1 e D_2 dopaminérgicos centrais nos mecanismos termorregulatórios e desempenho físico em ratos não treinados submetidos ao exercício submáximo contínuo até a fadiga. Ratos Wistar, de 11 a 12 semanas, foram submetidos à cirurgia para o implante de sensor de temperatura interna e de cânula crônica no ventrículo cerebral lateral direito (i.c.v.). Após adaptação em esteira rolante, os animais passaram por três tratamentos, através da microinjeção no i.c.v., de 2 μL de salina ($n= 6$) ou SCH 23390, na concentração 5×10^{-3} M, (SCH), antagonista D_1 , ($n= 6$) ou eticloprida (ETI, 5×10^{-3} M), na concentração 5×10^{-3} M, antagonista D_2 , ($n= 6$). Imediatamente após a microinjeção i.c.v., eles foram submetidos a um protocolo de exercício contínuo até a fadiga em esteira rolante ($v= 18 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$, 5% de inclinação, $\sim 66\% \text{ VO}_2\text{max}$). Apenas os ratos tratados com SCH apresentaram redução do tempo total de exercício até a fadiga (TTE). Entretanto, houve diferença na dissipação de calor entre os grupos: no controle ocorreu a partir de 30%, para o ETI a partir de 50% e para o SCH a partir de 70% do TTE, evidenciando uma dificuldade de dissipação de calor com a inibição dos receptores dopaminérgicos. Esse maior atraso na vasodilatação da cauda, evidenciado no grupo SCH, contribuiu para o aumento da taxa de acúmulo de calor e conseqüente redução do desempenho dos ratos deste grupo. Os resultados demonstram que a dopamina central parece influenciar no desempenho físico e no controle da termorregulação durante o exercício contínuo.

Palavras-chave: dopamina, SCH 23390, eticloprida, exercício, fadiga, termorregulação.

ABSTRACT

The present study investigated the effects of central dopamine on thermoregulatory mechanisms and performance of untrained rats submitted to submaximal exercise until fatigue with the blockage of the dopaminergic receptors D₁ or D₂. Male Wistar rats, 11-12 weeks-old, had the core temperature sensor in the abdominal cavity and the chronic cannula in the Right Cerebral Lateral Ventricle (VLD) were implanted under anesthesia. After adapting to the treadmill, rats were treated with a 2 µL injection in the VLD of either saline solution ($n= 6$), SCH 23390 (SCH, 5×10^{-3} M), D₁ antagonist, ($n= 6$) or eticlopride (ETI, 5×10^{-3} M), D₂ antagonist, ($n= 6$). Immediately after the i.c.v. injection rats were submitted to a continuous exercise protocol until fatigue on the treadmill ($v= 18 \text{ m} \cdot \text{min}^{-1}$, 5% grade, $\sim 66\% \text{ VO}_2\text{max}$). Only the animals treated with SCH showed reduction on exercise time to fatigue (TTE). However, the groups differed in the beginning of heat loss: the control group started after 30%, the ETI group after 50% and the SCH after 70% of TTE, demonstrating an impairment in heat loss with the inhibition of the dopaminergic receptors. This greater delay on tail vasodilation, evidenced in the SCH group, contributed to the increase of the heat storage rate and consequent decrease on the animals performance in this group. The results show the involvement of central dopamine in continuous exercise performance and thermoregulatory responses.

Keywords: dopamine, SCH 23390, eticlopride, exercise, fatigue, thermoregulation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama da biossíntese, liberação e metabolismo da dopamina.	20
Figura 2. Principais vias dopaminérgicas no sistema nervoso central.	22
Figura 3. Protocolo de adaptação à esteira rolante.	29
Figura 4. Protocolo experimental de repouso.	33
Figura 5. Protocolo experimental de exercício até a fadiga e pós-exercício.	34
Figura 6. Efeito do bloqueio i.c.v. de salina 0,15 M (SAL) ou SCH 23390 $5 \cdot 10^{-3}$ ou SCH 23390 $5 \cdot 10^{-4}$ M sobre a variação das temperaturas interna e da pele da cauda durante o repouso.....	42
Figura 7. Efeito da microinjeção i.c.v. de salina 0,15 M (SAL) ou ETI $5 \cdot 10^{-3}$ ou ETI $5 \cdot 10^{-4}$ M sobre a variação das temperaturas interna e da pele da cauda durante o repouso.....	44
Figura 8. Efeito da microinjeção i.c.v. de salina 0,15 M (SAL) ou SCH 23390 $5 \cdot 10^{-3}$ M (SCH) ou ETI $5 \cdot 10^{-3}$ M (ETI) sobre o tempo total de exercício.	46
Figura 9. Efeito da microinjeção i.c.v. de salina 0,15 M (SAL) ou SCH 23390 $5 \cdot 10^{-3}$ M (SCH) ou ETI $5 \cdot 10^{-3}$ M (ETI) sobre a temperatura interna e temperatura da pele da cauda durante o exercício.	48
Figura 10. Efeito da microinjeção i.c.v. de salina 0,15 M (SAL) ou SCH 23390 $5 \cdot 10^{-3}$ M (SCH) ou ETI $5 \cdot 10^{-3}$ M (ETI) sobre o limiar para vasodilatação da cauda durante o exercício.	50
Figura 11. Efeito da microinjeção i.c.v. de solução salina 0,15 M (SAL) ou SCH 23390 $5 \cdot 10^{-3}$ M (SCH) ou ETI $5 \cdot 10^{-3}$ M (ETI) sobre o índice de dissipação de calor durante o exercício.	51

Figura 12. Efeito da microinjeção i.c.v. de solução salina 0,15 M (SAL) ou SCH 23390 $5 \cdot 10^{-3}$ M (SCH) ou ETI $5 \cdot 10^{-3}$ M (ETI) sobre a temperatura da cauda em relação ao percentual do tempo de exercício.53

Figura 13. Efeito da microinjeção i.c.v. de solução salina 0,15 M (SAL) ou SCH 23390 $5 \cdot 10^{-3}$ M (SCH) ou ETI $5 \cdot 10^{-3}$ M (ETI) sobre a taxa de acúmulo de calor e a correlação entre a taxa de acúmulo de calor e o trabalho.55

Figura 14. Efeito da microinjeção i.c.v. de salina 0,15 M (SAL) ou SCH 23390 $5 \cdot 10^{-3}$ M (SCH) ou ETI $5 \cdot 10^{-3}$ M (ETI) sobre a taxa de elevação da temperatura corporal e a correlação entre a taxa de elevação da temperatura corporal e o tempo de exercício.....57

Figura 15. Efeito da microinjeção i.c.v. de salina 0,15 M (SAL) ou SCH 23390 $5 \cdot 10^{-3}$ M (SCH) ou ETI $5 \cdot 10^{-3}$ M (ETI) sobre a temperatura interna da pele cauda no pós-exercício.60

Figura 16. Efeito da microinjeção i.c.v. de salina 0,15 M (SAL) ou SCH 23390 $5 \cdot 10^{-3}$ M (SCH) ou ETI $5 \cdot 10^{-3}$ M (ETI) sobre a taxa de resfriamento corporal no pós-exercício.62

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AH	- Hipotálamo anterior
COMT	- Catecol-o-metil-transferase
DA	- Dopamina
DOPAC	- Ácido diidroxifenilacético
E.P.M.	- Erro padrão da média
ETI	- Eticloprida
Fos	- Proteínas nucleares
i.c.v.	- Intracerebroventricular
i.p.	- Intraperitoneal
IDC	- Índice de dissipação de calor
L-DOPA	- Dihidroxifenilalanina
MAO	- Monoamina oxidase
NA	- Noradrenalina
NTS	- Núcleo do trato solitário
POA	- Área pré-óptica
SAL	- Salina
SCH 23390	- R-(+)-7-Cloro-8-hidroxi-3-metil-1-fenil-2,3,4,5-tetrahydro-1H-3-benzazepina hidróclorido
SNC	- Sistema nervoso central
TAC	- Taxa de acúmulo de calor
TET	- Taxa de elevação de temperatura
TH	- Tirosina hidroxilase
TRC	- Taxa de resfriamento corporal
TTcV	- Limiar para a vasodilatação da cauda
TTE	- Tempo total de exercício
VTA	- Área tegumentar ventral

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	OBJETIVOS	26
2.1	Geral	26
2.2	Específicos	26
3	HIPÓTESE	27
4	MATERIAIS E MÉTODOS	28
4.1	Cuidados éticos	28
4.2	Animais	28
4.3	Protocolo de adaptação ao exercício na esteira rolante	28
4.4	Procedimentos cirúrgicos	29
4.4.1	Implante de sensor para a medida da temperatura intraperitoneal	30
4.4.2	Implante de cânula guia no ventrículo cerebral lateral direito	30
4.5	Microinjeção intracerebroventricular	31
4.6	Delineamento experimental	32
4.7	Variáveis medidas	35
4.7.1	Tempo total de exercício	35
4.7.2	Temperatura da pele da cauda	35
4.7.3	Temperatura intra-peritoneal	35
4.8	Variáveis de controle	36
4.8.1	Peso dos animais	36
4.8.2	Temperatura ambiente	36
4.8.3	Temperatura no interior da esteira	36
4.9	Variáveis calculadas	37
4.10	Eutanásia dos animais	39
4.11	Análise estatística	40
5	RESULTADOS	41
5.1	REPOUSO	41
5.1.1	Efeito do bloqueio intracerebroventricular dos receptores D ₁ sobre a variação da temperatura interna e da pele da cauda, em ratos em repouso.	41

5.1.2	Efeito do bloqueio intracerebroventricular dos receptores D ₂ sobre a variação da temperatura interna e da pele da cauda, em ratos em repouso. -----	43
5.2	EXERCÍCIO -----	45
5.2.1	Efeito do bloqueio intracerebroventricular dos receptores D ₁ ou D ₂ sobre o tempo total de exercício contínuo até a fadiga.-----	45
5.2.2	Efeito do bloqueio intracerebroventricular dos receptores D ₁ ou D ₂ sobre as temperaturas interna e da cauda de ratos submetidos ao exercício contínuo até a fadiga. -----	47
5.2.3	Efeito do bloqueio intracerebroventricular dos receptores D ₁ ou D ₂ sobre o limiar de temperatura interna para a vasodilatação da cauda (TTcV) e sobre o índice de dissipação de calor de ratos submetidos ao exercício contínuo até a fadiga. ----	49
5.2.4	Efeito do bloqueio intracerebroventricular dos receptores D ₁ ou D ₂ sobre o limiar de temperatura interna para a vasodilatação da cauda em relação ao percentual do tempo total de exercício.-----	52
5.2.5	Efeito do bloqueio intracerebroventricular dos receptores D ₁ ou D ₂ sobre a taxa de acúmulo de calor de ratos submetidos ao exercício contínuo até a fadiga. 54	
5.2.6	Efeito do bloqueio intracerebroventricular dos receptores D ₁ ou D ₂ sobre a taxa de elevação da corporal (TET) de ratos submetidos ao exercício contínuo até a fadiga. -----	56
5.3	PÓS-EXERCÍCIO -----	58
5.3.1	Efeito do bloqueio intracerebroventricular dos receptores D ₁ ou D ₂ sobre a temperatura interna e da cauda durante o período de 30 min pós-exercício, de ratos submetidos ao exercício contínuo até a fadiga. -----	58
5.3.2	Efeito do bloqueio intracerebroventricular dos receptores D ₁ ou D ₂ sobre a taxa de resfriamento corporal durante o período de 30 min pós-exercício, de ratos submetidos ao exercício contínuo até a fadiga.-----	61
6	DISCUSSÃO-----	63
7	CONCLUSÃO -----	69
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS -----	70

1 INTRODUÇÃO

Ajustes hormonais e metabólicos, que possibilitam a disponibilidade adequada de nutrientes para atender à demanda aumentada de energia do organismo, ocorrem durante o exercício. Esses ajustes dependem da intensidade e duração do exercício, além do estado nutricional do indivíduo.

O sistema nervoso central (SNC) integra e modula tanto as adaptações imediatas nos períodos que antecedem o início do esforço físico (pré-alimentação) como as que ocorrem durante o esforço (retroalimentação) (GALBO, 1985).

A fadiga, durante o exercício, é normalmente definida como a incapacidade de manter uma determinada força ou potência (GIBSON e EDWARDS, 1985, GANDEVIA, 1992, RODRIGUES e SILAMI-GARCIA, 1998). Pode ser considerada como a situação na qual o organismo interrompe ou reduz a intensidade do exercício como mecanismo de proteção, para prevenir um desequilíbrio da homeostase, antes que o limite dos ajustes de qualquer um dos sistemas fisiológicos envolvidos com a manutenção da atividade física seja atingido (NEWSHOLME, BLOMSTRAND E EKBLUM, 1992, RODRIGUES e SILAMI-GARCIA, 1998, MARINO, 2004). O impedimento na adequada sinalização entre o SNC e os músculos esqueléticos forma a base para a hipótese da fadiga central (DAVIS e BAILEY, 1997). Entre os muitos fatores que causam a fadiga, o fator térmico é considerado um indutor da fadiga central. Entretanto, os mecanismos exatos envolvidos na sua determinação durante o exercício ainda não foram totalmente elucidados.

A área pré-óptica e o hipotálamo anterior (POA/AH) têm sido apontados como os sítios primários da integração de sinais térmicos originados de diferentes partes do corpo e pela coordenação na regulação da temperatura central (GORDON, 1993). O hipotálamo regula e coordena a temperatura corporal, através da integração de informações provenientes dos receptores térmicos, localizados na pele, e também pela estimulação direta, através de modificações na temperatura do sangue que o perfunde (HAMMEL et al., 1963). A modulação da atividade da área pré-óptica

funciona de forma integrada como um termostato ajustado para manter a temperatura corporal, dentro de limites adequados para a manutenção da homeostasia (GORDON, 1993). Esse núcleo ajusta a taxa de transferência de calor do interior do corpo por meio da modulação da atividade do sistema nervoso simpático para os vasos da pele, regulando o fluxo sanguíneo periférico (SHELLOCK e RUBIN, 1984; OWENS et al., 2002). Entretanto, essa concepção de que os neurônios da POA, sensíveis ao calor e ao frio, agem de maneira recíproca e simétrica, de tal forma que todas as respostas termorregulatórias são desencadeadas por essa ou aquela classe de neurônios termosensíveis, tem sido questionada (ROMANOVSKY, 2007). De acordo com a nova concepção proposta, a fisiologia térmica é assimétrica. Para se garantir o limite de sobrevivência sob temperaturas elevadas, o controle da temperatura cerebral permite variações muito pequenas, dentro de poucos graus Celsius, com a possibilidade de ocorrer desnaturação das proteínas reguladoras. Por outro lado, para o limite inferior do controle da temperatura, tolera-se uma variação mais abrangente, com variação de algumas dezenas de graus, determinada pelo congelamento da água (ROMANOVSKY, 2007). As respostas autonômicas de proteção contra o calor e ao frio são iniciadas por alterações correspondentes na atividade dos neurônios sensíveis ao frio. As atividades aumentadas desses neurônios na POA desencadeiam respostas de proteção ao calor, enquanto as suas atividades reduzidas acarretam respostas de defesa ao frio (ZHANG et al., 1995, CHEN et al., 1998).

Estudos com humanos e animais têm mostrado que a temperatura corporal interna é o principal modulador do fluxo sanguíneo cutâneo durante o exercício (SHELLOCK e RUBIN, 1984, O'LEARY, JOHNSON e TAYLOR, 1985, NAGASHIMA et al., 2000). No entanto, ele também pode ser modulado pelos ajustes vasculares, que ocorrem em função da necessidade de perfusão tecidual.

É importante enfatizar que o aumento do fluxo sanguíneo cutâneo na cauda é o principal mecanismo de perda de calor durante o exercício em ratos (SHELLOCK e RUBIN, 1984). Esses animais não possuem sudorese com função termorregulatória e, durante o exercício, estão impossibilitados de espalhar saliva sobre a pele, atribuindo pouca participação da evaporação na dissipação de calor corporal. O

controle do fluxo sanguíneo da cauda é mediado por termosensores internos e periféricos, que modulam ou inibem a ação do tônus simpático, promovendo vasoconstrição e vasodilatação de acordo com a temperatura interna do animal (GORDON, 1993).

Durante o exercício prolongado, o aumento da temperatura corporal interna é um fator limitante do desempenho (NIELSEN et al., 1993, FULLER, CARTER E MITCHELL, 1998, GONZÁLEZ-ALONSO et al., 1999, NYBO e NIELSEN, 2001). De fato, em estudos nos quais esse tipo de exercício foi analisado encontrou-se uma correlação negativa entre a taxa de acúmulo de calor corporal e o tempo de exercício até a fadiga (RODRIGUES et al., 2003, SOARES et al., 2004a, LACERDA et al., 2005, Leite et al., 2006, WANNER et al., 2007). Por outro lado, outros autores sugerem que a interrupção do exercício prolongado estaria associada ao alcance de um valor crítico de temperatura, de aproximadamente 40° C (NIELSEN et al., 1993, FULLER, CARTER e MITCHELL, 1998, WALTERS et al., 2000). Porém, os mecanismos pelos quais o aumento da temperatura corporal determina a fadiga, durante o exercício prolongado, não estão totalmente claros. Tem sido proposto que o aumento da temperatura interna reduziria a motivação para o exercício e/ou diminuiria a ativação muscular. Além disso, que o estresse térmico estaria associado ao maior esforço cardiovascular e a alterações de perfusão tecidual (CHEUNG e SLEIVERT, 2004).

As alterações nas concentrações centrais das monoaminas, decorrentes do exercício, têm sido sugeridas como um dos principais mecanismos causadores da fadiga central (CHAOULOFF, 1989; NEWSHOLME e BLOOMSTRAND, 1996; FOLEY et al., 2006, SOARES, COIMBRA E MARUBAYASHI, 2007). Os receptores para estes neurotransmissores estão extensamente espalhados no SNC, incluindo a área pré-óptica (FEHLNER e GORDON, 1985) e o hipotálamo anterior (FEHLNER e GORDON, 1985; HAGIWARA e KUBO, 2005). A atividade da dopamina (DA) e da serotonina (5-HT) na POA/AH relaciona-se com o controle da termorregulação, mediando respostas como a vasodilatação da cauda em ratos (COX et al., 1980; HASEGAWA et al., 2000) e a tolerância ao exercício no ambiente quente (BRIDGE, 2003). Além disso, suas atividades no SNC modulam o aumento da liberação de hormônios neuroendócrinos (MELTZER, FLEMMING, ROBERTSON, 1983) e mudanças comportamentais que podem culminar na perda da motivação para

continuar a realização do exercício físico. DAVIS e BAILEY (1997) demonstraram que as atividades cerebrais de 5-HT e de DA estavam elevadas durante o exercício. Entretanto, no ponto da fadiga, os autores constataram uma redução na concentração de dopamina. Essa observação sugere que a razão entre a 5-HT/DA pode ser importante para o desenvolvimento da fadiga central, sendo que a alta relação 5-HT/DA associa-se com a sensação de cansaço e motivação reduzida.

WATSON *et al.* (2005) utilizaram bupropiona, inibidor da recaptação de dopamina e noradrenalina, durante a realização de um protocolo de exercício físico no qual os voluntários tinham que realizar uma quantidade de trabalho pré determinado em ciclo ergômetro, no menor tempo possível, em ambiente temperado (18°C) e quente (30°C). Os autores verificaram que, no ambiente quente, a bupropiona reduziu o tempo total para a execução da tarefa, refletindo um melhor desempenho dos voluntários, quando comparada ao placebo. Além disso, nesse mesmo ambiente, os indivíduos que ingeriram o fármaco apresentaram temperatura interna maior ou igual a 40°C, efeito não encontrado no grupo controle.

O aumento das catecolaminas cerebrais, DA e noradrenalina (NA), na POA/AH relaciona-se com o aumento do TTE, apesar da elevação da taxa de produção de calor (HASEGAWA *et al.*, 2008). Esses trabalhos sugerem que os efeitos da manipulação do sistema catecolaminérgico no centro termorregulatório podem prevalecer sobre os mecanismos inibitórios oriundos do SNC para finalizar o exercício, devido à hipertermia, o que poderia potencializar o risco de doenças induzidas pelo calor (WATSON *et al.*, 2005, HASEGAWA *et al.*, 2008, BALTHAZAR *et al.*, 2009).

Dopamina, noradrenalina e adrenalina pertencem à classe dos neurotransmissores conhecidos como catecolaminas. Catecolaminas e indolaminas (serotonina) são conhecidas como monoaminas. A dopamina é sintetizada principalmente no SNC, entretanto, ocorre uma pequena produção na medula das glândulas adrenais, podendo também ser detectada em alguns tecidos não-neuronais, como no pâncreas e na hipófise anterior (BEN-JONATHAN e HNASKO, 2001). Alterações no sistema dopaminérgico associam-se com um grande número de doenças, como a Doença de Parkinson, esquizofrenia e as psicoses. No eixo neuroendócrino,

disfunções da dopamina hipotalâmica ou nos receptores hipofisários levam à hiperprolactinemia e a distúrbios reprodutivos, já que a dopamina é a principal reguladora da expressão do gene e da secreção de prolactina (PRL) (BEN-JONATHAN e HNASKO, 2001).

A síntese da dopamina inicia-se a partir da tirosina, um aminoácido aromático essencial, cuja principal fonte é a dieta. Esse aminoácido, entretanto, pode ainda ser sintetizado a partir da fenilalanina, no fígado. Conforme mostrado na figura 1, a tirosina entra no neurônio através de um mecanismo sódio-dependente. A conversão de tirosina em dopamina depende da ação de duas enzimas: a) tirosina hidroxilase (TH) e b) aminoácido aromático descarboxilase (DCC), que catalisam a formação da dihidroxifenilalanina (L-DOPA) e da dopamina, respectivamente. A DA é, então, translocada para vesículas secretórias para armazenagem, proteção e secreção. A fusão das vesículas secretórias com a membrana plasmática resulta na liberação de dopamina na fenda sináptica ou no espaço extracelular, como é o caso de neurônios dopaminérgicos tubero-hipofisários. O neurotransmissor liga-se, assim, aos receptores de membrana, acoplados à proteína G, com o início dos efeitos intracelulares nas células alvo. Na fenda sináptica, a dopamina não ligada é recaptada pelos transportadores de dopamina (DTA), localizados na membrana plasmática dos neurônios pré-sinápticos. Tanto a dopamina recém sintetizada, como a recaptada, são translocadas para dentro de vesículas secretórias, mediada pelos transportadores de monoamina vesiculares (VMAT) (BEN-JONATHAN e HNASKO, 2001).

A conversão da dopamina em seu metabólito desaminado ocorre na membrana mitocondrial, através da ação da monoamina oxidase (MAO), produzindo ácido diidroxifenilacético (DOPAC). A metilação da DA, pela enzima catecol-O-metil-transferase (COMT) na fenda sináptica, é a principal responsável pela inativação das catecolaminas circulantes. As ações consecutivas da MAO e COMT produzem o ácido homovanílico. A determinação da concentração da razão DOPAC/DA serve como um bom método para se estimar as mudanças rápidas da atividade neural (BEN-JONATHAN e HNASKO, 2001).

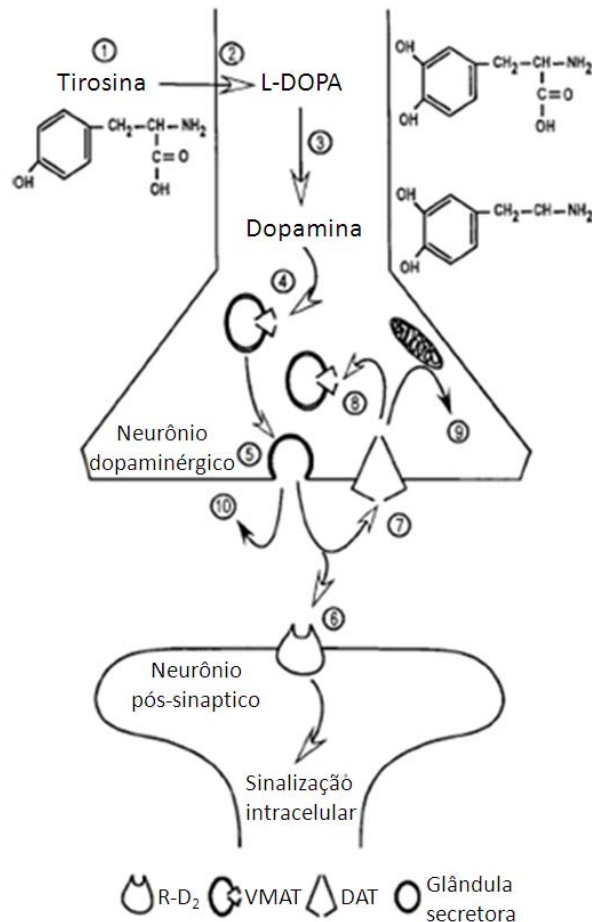


Figura 1. Diagrama da biossíntese, liberação e metabolismo da dopamina 1) a tirosina é levada para o neurônio por um mecanismo dependente de sódio; 2) passo limitante na via da biossíntese: conversão de tirosina em L-DOPA por TH; 3) Conversão de L-DOPA em dopamina pela DDC; 4) translocação da dopamina em vesículas secretoras de conservação, proteção e secreção; 5) fusão das vesículas secretoras da membrana plasmática resultando na liberação de dopamina na fenda sináptica ou no espaço extracelular; 6) ligação da dopamina aos seus receptores de membrana e início de vários efeitos nas células-alvo; 7) recaptação da dopamina pela DAT, localizados na membrana plasmática do neurônio pré-sináptico; 8) dopamina recém-sintetizada e recaptada pela célula são translocados, pelo VMAT, em vesículas secretoras; 9) MAO, localizada na membrana externa mitocondrial, converte a dopamina em seu metabólito deaminado; 10) COMT converte a dopamina ou o seu metabólito deaminado em produtos biologicamente inativos.

Fonte: adaptado de BEN-JONATHAN e HNASKO, 2001.

A dopamina, como precursora das catecolaminas (noradrenalina e adrenalina) pode ser convertida nesses neurotransmissores, dependendo do tipo de enzima que o neurônio contém. Os neurônios que contêm a enzima dopamina β-hidroxilase ativa convertem dopamina em noradrenalina e os que contêm feniletanolamina N-metil transferase convertem noradrenalina em adrenalina (BEN-JONATHAN e HNASKO, 2001). Independentemente de as catecolaminas serem produzidas, a tirosina hidroxilase é o passo limitante nesse caminho de biossíntese, uma vez que é uma

enzima saturável. Logo, a sua atividade é o principal fator que controla a síntese de dopamina e é regulada por mecanismos tanto em curto, como em longo prazo. Ao contrário da DOPA, a DA não atravessa a barreira hemato-encefálica e o seu catabolismo é o único mecanismo efetivo para a sua inativação (BOULTON e EISENHOFER, 1998).

Existem cinco tipos distintos de receptores dopaminérgicos de membrana conhecidos, agrupados em duas subfamílias, de acordo com as propriedades bioquímicas e farmacológicas: a) ligados ao D₁, que incluem os receptores D₁ e D₅, e b) os ligados ao D₂, que incluem D₂, D₃, D₄ (VALLONE, PICETTI, BORRELLI, 2000, BEN-JONATHAN e HNASKO, 2001, GOODMAN e GILMAN, 2007). A atividade desses receptores está acoplada à proteína G, na membrana plasmática, sendo que a) D₁, ligado à subunidade excitatória (G_s), aumenta a concentração intracelular do AMP-cíclico (AMP_C) e b) D₂, ligado à subunidade inibitória (G_i), reduz a concentração do AMP_C intracelular (VALLONE et al., 2000, GOODMAN e GILMAN, 2007). Porém, existem poucas evidências do subtipo de receptor dopaminérgico envolvido tanto na fadiga quanto no controle termorregulatório.

Conforme pode ser observado na figura 2, o cérebro contém vários sistemas dopaminérgicos bem definidos, que se originam no mesencéfalo e se projetam para o corpo estriado, sistema límbico e córtex. As projeções neuronais que ligam a substância negra ao corpo estriado formam o sistema nigro-estriatal, cujos corpos celulares se situam na substância negra, com os axônios terminando no corpo estriado (GREENSTEIN e GREENSTEIN, 2000, KATZUNG et al., 2001, GREENSPAN e GARDNER, 2004, COSENZA, 2005). As projeções que ligam a área tegumentar ventral (VTA) às estruturas do sistema límbico formam o sistema mesolímbico/ mesocortical. Os corpos celulares desses neurônios ocorrem em grupos no mesencéfalo, com fibras que se projetam para regiões do sistema límbico, como particularmente para o córtex límbico, além dos núcleos accumbens e amígdaloide (GREENSTEIN e GREENSTEIN, 2000, KATZUNG et al., 2001, GREENSPAN e GARDNER, 2004, COSENZA, 2005). Os neurônios dopaminérgicos presentes na região tuberobasal ventral do hipotálamo formam o sistema túbero-hipofisário de neurônios dopaminérgicos. Os axônios desses neurônios são curtos, direcionando-se para a eminência mediana e hipófise, a partir do núcleo arqueado

hipotalâmico, onde se encontram os corpos celulares, que secretam DA na vasculatura do sistema porta-hipofisário, exercendo um papel importante na regulação funcional do eixo hipotálamo-hipófise (GREENSTEIN e GREENSTEIN, 2000, KATZUNG et al., 2001, GREENSPAN e GARDNER, 2004, COSENZA, 2005).

Os efeitos da atividade dopaminérgica central podem ser divididos em: a) efeitos sobre o controle motor, através do sistema dopaminérgico nigro-estriatal; b) efeitos sobre o sistema endócrino, via sistema túbero-hipofisário e c) efeitos comportamentais, por meio do sistema meso-límbico/meso-cortical (GREENSTEIN e GREENSTEIN, 2000, KATZUNG et al., 2001, GREENSPAN e GARDNER, 2004). Porém esses sistemas não exercem ação direta na regulação da função hipofisária (BEN-JONATHAN e HNASKO, 2001, COSENZA, 2005).

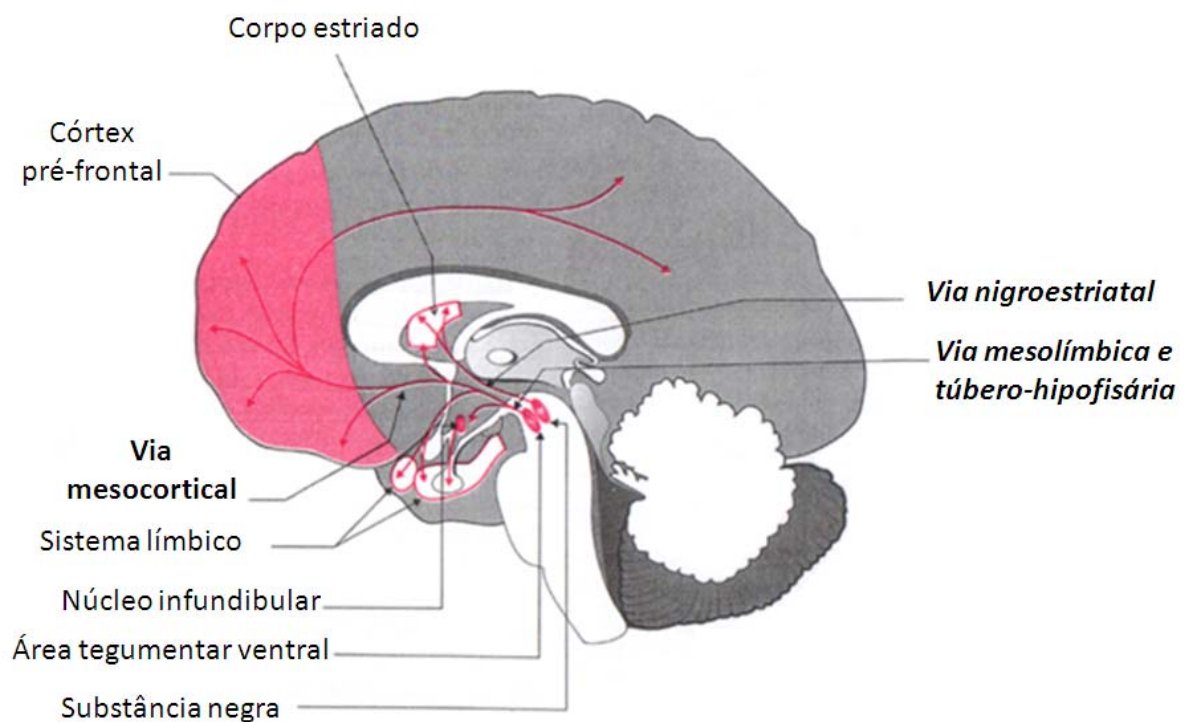


FIGURA 2. Principais vias dopaminérgicas no sistema nervoso central.

Fonte: COSENZA, 2005.

Os receptores D_1 e D_2 estão presentes em grande quantidade no caudado putamen, nos núcleos acumbentes e no tubérculo olfatório. O hipotálamo possui quantidade moderada dos dois receptores e, dessa forma, a dopamina pode desempenhar papel fisiológico, como um neurotransmissor hipotalâmico no controle da termorregulação (COX et al., 1980). Receptores D_2 também estão presentes na substância negra, área tegumentar ventral e hipocampo, enquanto a amígdala contém principalmente receptores D_1 e poucos D_2 . Os lobos anterior e intermediário da hipófise possuem elevada expressão de RNAm do receptor D_2 (MANSOUR, 1990, O'CONNELL, 1996). Devido ao seu papel de estímulo do movimento, a dopamina, ligada aos receptores D_1 no caudado putamen, facilita a ativação da via dopaminérgica direta (facilitadora da atividade motora), enquanto a relacionada aos receptores D_2 , na mesma área cerebral, inibem a ativação da via indireta (inibidora da atividade motora) para o gânglio basal (FOLEY e FLESHNER, 2008).

Tem sido mostrado que manipulações farmacológicas, que aumentam a concentração de dopamina, retardam o início da fadiga (GERALD, 1978, DAVIS e BAILEY, 1997, WATSON et al., 2005, HASEGAWA et al., 2005b, FOLEY e FLESHNER, 2008, BALTHAZAR et al., 2009), enquanto que as que reduzem a atividade dopaminérgica antecipam a fadiga (BAILEY, DAVIS e AHLBORN, 1993b, KALINSKI, DLUZEN e STADULIS, 2001, FOLEY e FLESHNER, 2008). As alterações no tempo total de corrida até a fadiga, produzidas por administrações farmacológicas das monoaminas, ocorrem devido às alterações, isoladas ou em conjunto, na temperatura corporal, glicose sanguínea, glicogênio muscular e hepático, ou nos hormônios do estresse (BAILEY, DAVIS e AHLBORN, 1993a).

O fármaco R-(+)-7-Cloro-8-hidroxi-3-metil-1-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1H-3-benzazepina hidrocloreto (SCH23390), é um antagonista do receptor dopaminérgico D_1 , altamente seletivo (afinidade mil vezes maior para o receptor D_1 , quando comparado ao D_3) (IORIO et al., 1983) e age inibindo a atividade da adenil ciclase. Esse fármaco tem sido amplamente utilizado para caracterizar a função do receptor D_1 , bem como para distinguir os receptores da “subfamília” D_1 (D_1 e D_5) dos da D_2 (D_2 , D_3 , e D_4) (KUZHIKANDATHIL e OXFORD, 2002). Para se estudar as ações mediadas pelo receptor de dopamina D_2 tem-se utilizado o antagonista eticloprida. Por ser altamente

seletivo e por apresentar pouca ação inespecífica, mesmo quando administrado em concentrações elevadas (HALL, KÖHLER, GAWELL, 1985).

Em um estudo realizado com ratos, LISTE *et al.* (1997) submetem os animais a um protocolo de exercício em esteira por 7 dias consecutivos, durante 20 minutos diários. Durante esses dias, eles receberam um pré-tratamento intraperitoneal (i.p.) para inibir os receptores dopaminérgicos D₁ com SCH 23390, D₂ com eticloprida e o receptor de glutamato N-metil-D-aspartato (NMDA) com MK-801 (dizocilpina). Em seguida, os ratos realizaram exercício com velocidade de 36 m·min⁻¹, durante 20 minutos. Após 2 horas, os animais foram sacrificados para avaliar a expressão, no corpo estriado, de Fos, que são proteínas nucleares, cuja formação é estimulada por fatores que provocam mudanças nos neurônios (LISTE *et al.*, 1997). Os autores observaram que o antagonista MK-801 promoveu a hiperatividade dos ratos. A utilização de SCH 23390 provocou redução na atividade locomotora dos animais tratados com esse fármaco isolado, ou em conjunto com a eticloprida. Porém, esse efeito não foi observado com o pré-tratamento do antagonista de D₂ isolado. Como conclusão, os autores verificaram que o estímulo fisiológico provocado pela corrida induziu a formação de Fos nos neurônios localizados no corpo estriado medial e núcleo acumbente, nos quais existe a participação dos sistemas dopaminérgicos, especificamente via receptores dopaminérgicos D₁, e glutamaérgicos, via NMDA.

Dados recentes demonstram que a maior disponibilidade de dopamina no SNC possui efeito ergogênico, além de aumentar a tolerância ao calor acumulado e a taxa metabólica (BALTHAZAR *et al.*, 2009). O aumento do desempenho parece ocorrido devido à ação da dopamina no sistema mesolímbico de recompensa, que anularia os sinais inibitórios oriundos do SNC para a interrupção do exercício.

O bloqueio dos receptores dopaminérgicos centrais D₁ ou D₂, através da microinjeção i.c.v., utilizando os fármacos SCH 23390 e eticloprida, antagonistas dopaminérgicos, reduziu a tolerância ao exercício, sem influenciar no consumo de oxigênio, indicando a redução da capacidade de perda de calor dos animais, que levaria a hipertermia persistente no período pós-exercício (BALTHAZAR, 2008).

Como pode ser observado, os estudos envolvendo as respostas do exercício com a utilização desses fármacos, antagonistas do sistema dopaminérgico, na modulação da dopamina central, avaliaram as respostas de termorregulação e desempenho, apenas durante um protocolo de exercício de intensidade progressiva. Caracterizada por ser de curta duração e de envolver mudança na intensidade, essa atividade diferencia-se à do exercício de intensidade contínua, quanto ao comportamento metabólico, quanto às respostas termorregulatórias e, também, quanto ao total de trabalho produzido (MCARDLE et al., 2001).

Assim, para melhor esclarecer a participação do sistema dopaminérgico nos mecanismos de termorregulação e fadiga durante o exercício, ressalta-se a importância de se avaliar o bloqueio dos receptores D₁ ou D₂, durante um exercício moderado, com velocidade constante, até o momento da fadiga, bem como durante o período pós-exercício.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Investigar os efeitos do bloqueio dos receptores D_1 e D_2 dopaminérgicos centrais sobre o desempenho físico e sobre os mecanismos termorregulatórios em ratos, não treinados, submetidos ao exercício submáximo contínuo até a fadiga.

2.2 Específicos

- Estudar o efeito do bloqueio dos receptores dopaminérgicos D_1 ou D_2 centrais sobre as respostas termorregulatórias durante o repouso;
- Estudar o efeito do bloqueio dos receptores dopaminérgicos D_1 ou D_2 centrais sobre o desempenho físico de ratos submetidos ao exercício submáximo contínuo até a fadiga;
- Estudar o efeito do bloqueio dos receptores dopaminérgicos D_1 ou D_2 centrais sobre as respostas termorregulatórias de ratos submetidos ao exercício submáximo contínuo até a fadiga;
- Estudar o efeito do bloqueio dos receptores dopaminérgicos D_1 ou D_2 centrais sobre as respostas termorregulatórias de ratos durante a recuperação de um exercício submáximo contínuo até a fadiga.

3 HIPÓTESE

- Hipótese alternativa: o bloqueio dos receptores dopaminérgicos D₁ ou D₂ aumenta o acúmulo de calor e antecipa a fadiga, reduzindo o tempo total de exercício, durante a realização de um exercício físico de intensidade contínua até a fadiga.
- Hipótese nula: o bloqueio dos receptores dopaminérgicos D₁ ou D₂ não interfere no acúmulo de calor e não antecipa a fadiga com consequente redução do tempo total de exercício durante a realização de um exercício físico de intensidade contínua até a fadiga.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Cuidados éticos

Os procedimentos experimentais realizados neste estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CETEA) da Universidade Federal de Minas Gerais, sob protocolo de número 159/2008.

4.2 Animais

Foram utilizados ratos Wistar, machos, pesando entre 250 e 350 g, provenientes do Centro de Bioterismo, do Instituto de Ciências Biológicas, da Universidade Federal de Minas Gerais (CEBIO/UFMG). Os animais foram mantidos em gaiolas individuais em uma sala com temperatura controlada em, aproximadamente, $24 \pm 1^\circ\text{C}$, sob um ciclo claro-escuro de 14-10h (5h – 19h), com acesso a ração granulada (Labina[®]) e água *ad libitum*.

4.3 Protocolo de adaptação ao exercício na esteira rolante

O protocolo de adaptação teve como finalidades a familiarização com o local de corrida, bem como o aprendizado da direção do movimento e impedir que os animais ficassem presos no sensor de cauda (SOARES, COIMBRA E MARUBAYASHI, 2007, LEITE et al., 2006). Para isso, os ratos foram colocados na esteira para pequenos animais (Treadmill Simplex II, Columbus Instruments, EUA), durante 6 dias, sendo 3 dias consecutivos antes da cirurgia e três após o período de

recuperação, condizente com o retorno do peso pré-cirúrgico do animal (AMERICAN PHYSIOLOGICAL SOCIETY, 2006).

A velocidade inicial da esteira, no primeiro dia de adaptação, foi de 15 m.min⁻¹, durante 5 min, a 5% de inclinação. No segundo dia, a velocidade foi de 16 m.min⁻¹ e de 17 m.min⁻¹, durante 5 min cada, num total de 10 min, com a mesma inclinação anterior. No terceiro dia, a velocidade foi de 17 m.min⁻¹ e 18 m.min⁻¹, com a mesma duração de 5 min cada. Após a recuperação do peso pré-cirúrgico, os ratos foram readaptados à corrida na esteira, com inclinação de 5%, durante 5 min, à velocidade de 18 m.min⁻¹, em 3 dias consecutivos. Durante esse período de adaptação, foi fixado o sensor de temperatura de pele, na porção do terço proximal da cauda do rato, antes da corrida na esteira, a fim de diminuir o estresse do animal, causado pelo sensor no dia do experimento (figura 3).

Essa adaptação foi realizada em uma sala com temperatura de 22 ± 1°C, entre 8 h e 13 h. A estimulação elétrica na esteira foi fixada entre a intensidade de 5,5 a 7,5 mA, sendo que, para os animais, esse estímulo serve como uma motivação para a realização do exercício (AMERICAN PHYSIOLOGICAL SOCIETY, 2006).

Finalizada a adaptação, iniciou-se, no dia seguinte, a primeira sessão experimental, com velocidade de 18 m.min⁻¹, com 5% de inclinação, que corresponde a, aproximadamente, 66% VO₂max (LIMA, 2000).

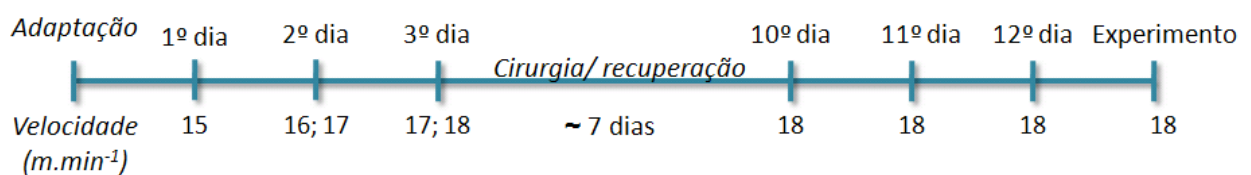


Figura 3. Protocolo de adaptação à esteira rolante.

4.4 Procedimentos cirúrgicos

4.4.1 Implante de sensor para a medida da temperatura intraperitoneal

O sensor de temperatura (Mini-Mitter, Sunriver, OR, USA, série 300VMFH, peso de 2,2g) foi colocado na cavidade peritoneal dos animais para a medida da temperatura corporal interna por telemetria. O sensor contendo bateria de lítio (3 V) foi vedado com parafina inerte e previamente calibrado com precisão de 0,01°C.

Para o implante deste sensor, os animais foram anestesiados com uma mistura de Ketamina (100 mg/kg de massa corporal, i.p.) e Xilazina (0,05 mg/kg de massa corporal, i.p.) e receberam uma dose de antibiótico (48.000 U – Pentabiótico Veterinário Pequeno Porte, i.m) no volume de 0,2 mL (0,1 mL em cada pata traseira) e uma dose de analgésico (Banamine injetável, 1,1 mg/kg de massa corporal, subcutâneo) no volume de 0,2 mL em uma das patas traseiras.

Para a inserção do sensor na cavidade peritoneal, foi realizada a remoção dos pelos e feita assepsia da região abdominal, seguida de uma incisão ventral de aproximadamente 2 cm, seguida de outro corte na linha Alba do músculo reto abdominal para colocar o sensor. Após o implante, o músculo abdominal e a pele foram suturados (LACERDA et al., 2005, HAGIWARA e KUBO, 2005).

4.4.2 Implante de cânula guia no ventrículo cerebral lateral direito

Para realizar a microinjeção de soluções com antagonistas dos receptores dopaminérgicos centrais, foi implantada uma cânula guia intracerebroventricular (i.c.v.) (FULLER, CARTER e MITCHELL, 1998, SOARES, 2004a, LACERDA et al., 2005). Essa cirurgia foi realizada sob efeito da mesma dose do anestésico, para a realização do procedimento de implante do sensor de temperatura.

Após depilação e assepsia da porção superior da cabeça, realizou-se uma incisão longitudinal da pele e do tecido subcutâneo. Para facilitar a remoção do periósteo e reduzir o sangramento da área, utilizou-se xilocaína (solução de cloridrato de lidocaína 2% e de adrenalina). A área foi limpa até que a superfície ficasse

totalmente seca, facilitando a adesão da resina e a fixação da cânula no local correto, a partir das coordenadas de referência.

Os animais foram fixados no esterotáxico para animais de pequeno porte (Insight Equipamentos – modelo ETX3/99, SP, Brasil). Realizou-se craniotomia por meio de uma broca odontológica (Maxi-Oto, Brasil) e foram feitos dois furos no crânio do animal (anterior e lateral, à direita da linha mediana; posterior e lateral, à esquerda da linha mediana) para a fixação de parafusos de relojoeiro. O implante da cânula guia de aço inoxidável (22 G e 16 mm de comprimento) i.c.v., foi efetuado de acordo com as coordenadas do Atlas de PAXINOS e WATSON (1986): 1,5 mm posterior ao bregma (ântero-posterior); 2,5 mm a partir da linha mediana (látero-lateral); 3,0 mm a partir da dura-máter. A cânula guia foi ancorada aos parafusos e fixada à calota craniana por meio de cimento odontológico auto-polimerizável, moldado em forma de cone. O posicionamento correto da cânula guia i.c.v. foi verificado segundo a técnica de ANTUNES-RODRIGUES e McCANN (1970).

Finalizado o procedimento de inserção e fixação da cânula central, ela foi protegida por um mandril com fio de nylon.

4.5 Microinjeção intracerebroventricular

A inibição dos receptores dopaminérgicos foi efetuada pela microinjeção de 2 μ L de solução de R-(+)-7-Cloro-8-hidroxi-3-metil-1-fenil-2,3,4,5-tetrahydro-1H-3-benzazepina hidrocloreto (SCH 23390) (Sigma, St. Louis, EUA), antagonista do receptor D₁ dopaminérgico ou eticloprida (Sigma, St. Louis, EUA), antagonista do receptor D₂, ambos na concentrações 5x10⁻³ M (20 η mol) e 5x10⁻⁴ M (10 η mol), esta somente para o grupo de repouso. O controle foi feito por meio da microinjeção de NaCl (0,15 M).

A escolha dos fármacos utilizados ocorreu em virtude da alta seletividade aos receptores dopaminérgicos (BALTHAZAR, 2008), bem como devido aos seus efeitos verificados durante a realização de um exercício de intensidade progressiva sobre a

redução do desempenho físico e do aumento da temperatura interna em ratos (BALTHAZAR et al., 2010, aceito para publicação)

Nos experimentos, as injeções foram realizadas utilizando-se uma seringa (Hamilton Company, Nevada, EUA), de 5 μ L, conectada à cânula cerebral, através de uma agulha injetora, conectada ao tubo de polietileno (PE10).

4.6 Delineamento experimental

PROTOCOLO 1

Para as medidas durante o repouso, foram utilizados dois grupos de animais ($n= 4$, por grupo). Um grupo recebeu a microinjeção intracerebroventricular de salina (0,15 M) ou SCH 23390, na concentração 5×10^{-3} M ou 5×10^{-4} M em experimentos distintos. O outro, além da microinjeção i.c.v. de salina (0,15 M), recebeu, como tratamento, a microinjeção de eticloprida também na concentração 5×10^{-3} M ou 5×10^{-4} M. Essas duas concentrações foram utilizadas para verificar a inibição da dopamina central sobre os mecanismos termorregulatórios durante o período de repouso.

Nos dias dos experimentos, os ratos foram retirados do biotério, pesados, colocados novamente em suas gaiolas e levados à sala de experimentos, mantida a $22 \pm 1^\circ\text{C}$. O termossensor foi fixado na base da cauda do animal e a cânula conectada à microseringa para a microinjeção i.c.v.. Foi permitido um período de, no mínimo, 60 min ou até que os ratos tivessem a temperatura interna estável por 20 min para que as injeções fossem realizadas (figura 4). A microinjeção de 2 μ L das soluções foi feita lentamente, durante 1 min, para se evitar o aumento da pressão hidrostática local. A agulha injetora foi mantida conectada durante os 60 min de repouso subsequentes. Durante esse período, foram medidas as temperaturas interna e da cauda dos animais.

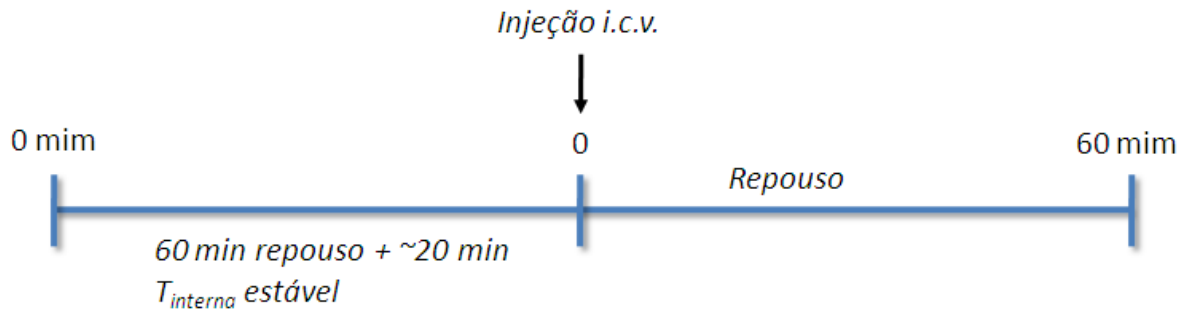


Figura 4. Protocolo experimental de repouso.

PROTOCOLO 2

O grupo de animais ($n= 6$) realizou exercício físico de intensidade contínua até a fadiga, com velocidade de $18 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$ e 5% de inclinação da esteira, após microinjeção i.c.v. de salina (0,15 M) ou dos fármacos, SCH 23390 ou eticloprida, ambos na concentração 5×10^{-3} M. Foram medidos o tempo total de exercício, temperaturas intraperitoneal e da cauda durante o exercício e durante 30 min após o término do exercício.

No dia do experimento, cada animal foi retirado do biotério, pesado, colocado em sua gaiola e levado à sala de experimentos, mantida a $22 \pm 1^\circ\text{C}$. O termossensor foi fixado na base da cauda do animal e a cânula conectada à microseringa para a injeção i.c.v.. Os ratos foram, a seguir, colocados na esteira e mantidos em repouso, durante 60 min ou até que tivessem a sua temperatura interna estável, por pelo menos 20 min. Após esse período, foi feita a microinjeção de $2 \mu\text{L}$ das soluções, em um intervalo de 1 min, para se evitar o aumento súbito da pressão hidrostática local. Em seguida, foi dado um tempo de 30 segundos para permitir a difusão da salina ou dos fármacos e, então, iniciou-se o exercício contínuo até a fadiga (figura 5).

A fadiga foi definida como o ponto no qual os animais não foram mais capazes de manter a cadência na esteira (AMERICAN PHYSIOLOGICAL SOCIETY, 2006; SOARES, LIMA e MARUBAYASHI, 2003). Após o exercício, os ratos permaneceram na esteira por mais 30 minutos para medida das temperaturas interna, da cauda e da esteira.

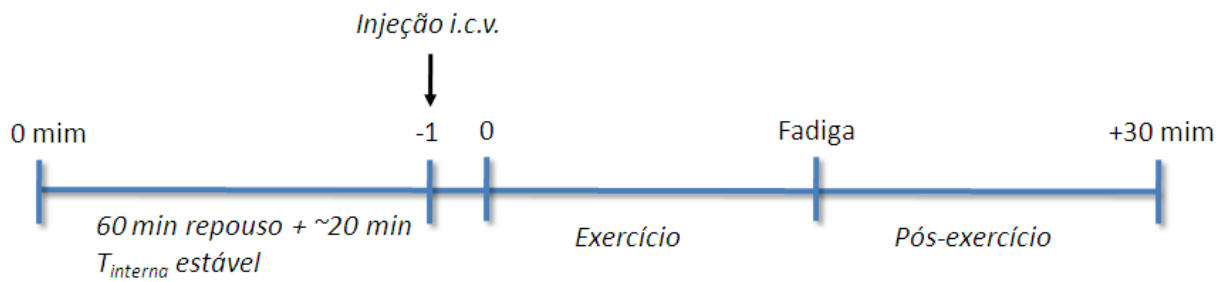


Figura 5. Protocolo experimental de exercício até a fadiga e pós-exercício.

Nos dois protocolos realizados foi permitido um intervalo de três dias, para que não houvesse nenhuma interferência dos fármacos utilizados, bem como para garantir um tempo suficiente de recuperação do esforço físico (BALTHAZAR, 2008).

Os experimentos foram realizados de forma velada e as situações experimentais foram todas aleatórias.

4.7 Variáveis medidas

4.7.1 Tempo total de exercício

O tempo total de exercício (TTE), em minutos, correspondeu ao intervalo entre o início do exercício e o momento em que os ratos entraram em fadiga. A medida foi feita utilizando-se cronômetro com precisão de 0,01 segundos. O critério para a determinação da fadiga foi a permanência do animal sobre a grade de estímulo elétrico, durante 10 segundos ou a sua parada na grade de choque no mesmo minuto por mais de três vezes, o que demonstra a incapacidade do animal em manter a intensidade de exercício pré-estabelecida (LACERDA, 2006, LEITE et al., 2006).

4.7.2 Temperatura da pele da cauda

A temperatura da pele da cauda do rato foi medida utilizando-se um termosensor (Yellow Spring Instruments - YSI, Dayton, EUA, modelo 409B) acoplado a um teletermômetro de temperatura (YSI, modelo 400A). O sensor foi posicionado a 2 cm da base da cauda, na porção lateral (YOUNG e DAWSON, 1982), utilizando-se esparadrapo impermeável. O registro da temperatura foi feito a cada minuto.

4.7.3 Temperatura intra-peritoneal

O sensor de temperatura implantado na cavidade peritoneal do animal transfere as variações de frequência para uma placa de temperatura, por telemetria. Essa placa

envia os sinais para o programa de computador (Vital View, Mini-Mitter), que armazena os dados. As medidas de temperatura interna foram registradas em intervalos constantes de 5 segundos e expressas em graus Celsius (°C).

4.8 Variáveis de controle

4.8.1 Peso dos animais

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

4.8.2 Temperatura ambiente

A temperatura da sala de experimentos foi regulada por um ar condicionado e monitorada através de um termômetro de mercúrio, a cada minuto.

4.8.3 Temperatura no interior da esteira

A temperatura no interior da esteira foi mantida em $22 \pm 1^\circ \text{C}$ e medida a cada minuto, utilizando-se um sensor de temperatura posicionado na parte superior da esteira e acoplado a um tele-termômetro.

4.9 Variáveis calculadas

TRABALHO

O trabalho (W, kgm) foi calculado como:

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

Sendo:

m= massa corporal (g);

TTE= tempo total de exercício (min);

v= velocidade da esteira ($\text{m} \cdot \text{min}^{-1}$);

$\text{sen}\alpha$ = inclinação da esteira (BROOKS e WHITE, 1978, LIMA et al., 2001).

ÍNDICE DE DISSIPACÃO DE CALOR

O índice de dissipação de calor (IDC) varia de 0 (vasoconstrição máxima; temperatura da pele igual à temperatura ambiente) a 1 (vasodilatação máxima; temperatura da pele igual à temperatura interna). O índice tem sido utilizado para estimar a dissipação de calor pela cauda dos ratos (RAMAN, ROBERTS e VANHUYSE, 1983, O'LEARY, JOHNSON e TAYLOR, 1985).

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

Sendo:

T_{cauda} = temperatura da pele da cauda ($^{\circ}\text{C}$);

T_{esteira} = temperatura da esteira ($^{\circ}\text{C}$);

T_{interna} = temperatura intraperitoneal ($^{\circ}\text{C}$).

TAXA DE ACÚMULO DE CALOR

A taxa de acúmulo de calor (TAC, $\text{cal}\cdot\text{min}^{-1}$) foi calculada dividindo-se o calor acumulado pelo intervalo de tempo analisado (GORDON, 1993):

$$\text{TAC} = \frac{m \cdot c \cdot \Delta T_{\text{Interna}}}{\text{TTE}}$$

Sendo:

m = massa corporal dos animais (g);

c = calor específico dos tecidos ($0,82586 \text{ cal}\cdot\text{g}^{-1}\cdot^{\circ}\text{C}^{-1}$);

$\Delta T_{\text{interna}}$ = variação da temperatura interna ($T_f - T_i$); sendo T_f = Temperatura interna no ponto de fadiga; e T_i = Temperatura interna inicial medida antes do exercício;

TTE = tempo total de exercício (min).

TAXA DE ELEVAÇÃO DE TEMPERATURA

A taxa de elevação de temperatura (TET; $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$) é a taxa de aumento na temperatura corporal. Foi calculada como:

$$\text{TET} = \frac{\Delta T_{\text{Interna}}}{\text{TTE}}$$

Sendo:

$\Delta T_{\text{interna}}$ = variação da temperatura interna ($T_f - T_i$); sendo T_f = Temperatura interna no ponto de fadiga; e T_i = Temperatura interna inicial medida antes do exercício;

TTE = tempo total de exercício (min).

TAXA DE RESFRIAMENTO CORPORAL

A taxa de resfriamento corporal (TRC, °C·min⁻¹) avalia a redução da temperatura interna (PRÍMOLA-GOMES et al., 2007) e foi analisada aos 15 e 30 minutos do pós-exercício. Foi calculada como:

$$TRC = \frac{\Delta T_{\text{interna pós}}}{TPE}$$

Sendo:

$\Delta T_{\text{interna pós}}$ = variação da temperatura interna pós exercício ($T_f - T_i$); sendo T_f = Temperatura interna no ponto de fadiga; e T_i = Temperatura interna medida pós-exercício;

TPE = tempo pós-exercício (15 ou 30 min).

4.10 Eutanásia dos animais

Após o último experimento, os animais foram eutanasiados por meio de uma dose letal de pentobarbital sódico (100 mg/kg de peso corporal, via intra-peritoneal). O capacete e sensor de temperatura interna foram removidos e as carcaças adequadamente descartadas.

4.11 Análise estatística

Os dados foram expressos como média \pm erro padrão da média.

Para análise das fontes de variação entre o tempo e os tratamentos, foi realizada análise de variância (ANOVA) *Two Way* com medidas repetidas para as variáveis de temperaturas interna e da pele da cauda e IDC. Foi utilizada ANOVA *One Way* com medidas repetidas para as variáveis TTE, W, TAC, TTcV, TET e TRC. Quando foi verificado diferença na variância entre as situações experimentais, os dados foram submetidos ao teste *post-hoc* das diferenças mínimas significativas, de acordo com o coeficiente de variação (CV).

Para as variáveis cujo, CV eram menores que 15% (temperaturas interna, da cauda e índice de dissipação de calor), foi aplicado o teste de Tukey.

Para as variáveis, cujo CV eram maiores que 30% (TTE, W, CA, TAC, TET, TTcV e TRC), foi aplicado o teste de Student-Newman-Keus.

Para análise das correlações entre algumas variáveis (*W versus* TAC e *TTE versus* TET), foi utilizado o coeficiente de correlação de Pearson.

O nível de significância adotado foi $p < 0,05$.

5 RESULTADOS

5.1 REPOUSO

5.1.1 Efeito do bloqueio intracerebroventricular dos receptores D_1 , em duas concentrações diferentes, sobre a variação da temperatura interna e da pele da cauda, durante 60 min, em ratos em repouso.

A figura 6 apresenta os valores médios da variação das temperaturas interna ($^{\circ}\text{C}$) no painel superior e da pele da cauda ($^{\circ}\text{C}$) no painel inferior, após a microinjeção intracerebroventricular de 2 μL de salina 0,15 M ou de SCH 233390 5×10^{-3} M ou 5×10^{-4} M de ratos em repouso.

A temperatura interna e da pele da cauda dos ratos tratados com SCH, antagonista D_1 , em ambas as concentrações, não se mostraram diferente do controle ao longo do tempo observado.

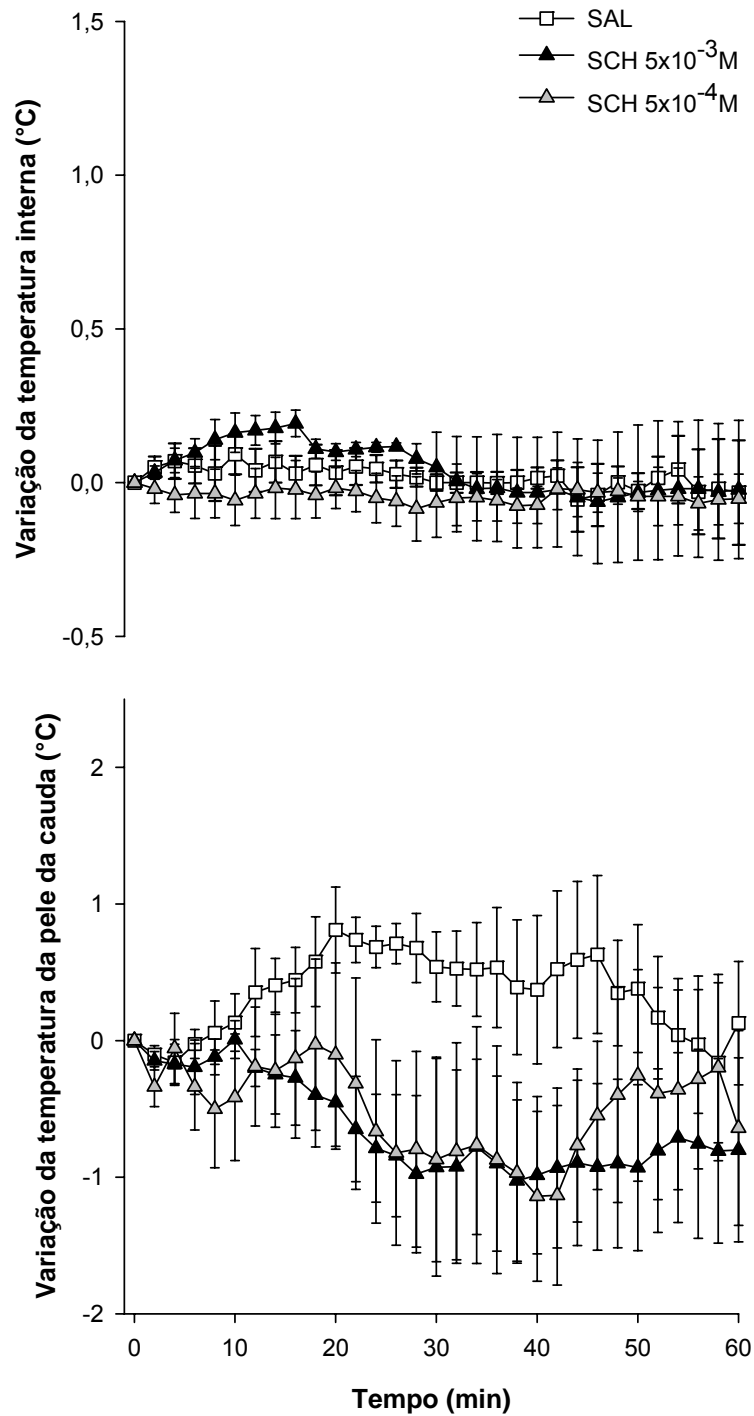


Figura 6. Efeito da microinjeção i.c.v. de 2 μ L de solução salina 0,15 M (SAL) ou SCH 23390 5×10^{-3} (D_1) ou SCH 23390 5×10^{-4} M sobre a variação das temperaturas interna (painel superior) e da pele da cauda (painel inferior), durante 60 min, em animais em repouso ($T_{\text{ambiente}} 22^\circ\text{C}$). Dados expressos como média \pm E.P.M., $n=4$, em cada tratamento.

5.1.2 Efeito do bloqueio intracerebroventricular dos receptores D₂, em duas concentrações diferentes, sobre a variação da temperatura interna e da pele da cauda, durante 60 min, em ratos em repouso.

A figura 7 mostra os valores médios da variação das temperaturas interna (°C) no painel superior e da pele da cauda (°C) no painel inferior, após a microinjeção no ventrículo cerebral lateral direito de 2 µL de salina 0,15 M ou de ETI 5x10⁻³ M ou 5x10⁻⁴ M de ratos em repouso.

A temperatura interna e da pele da cauda dos ratos tratados com ETI, antagonista D₂, em ambas as concentrações, não se mostraram diferentes do controle ao longo do tempo observado.

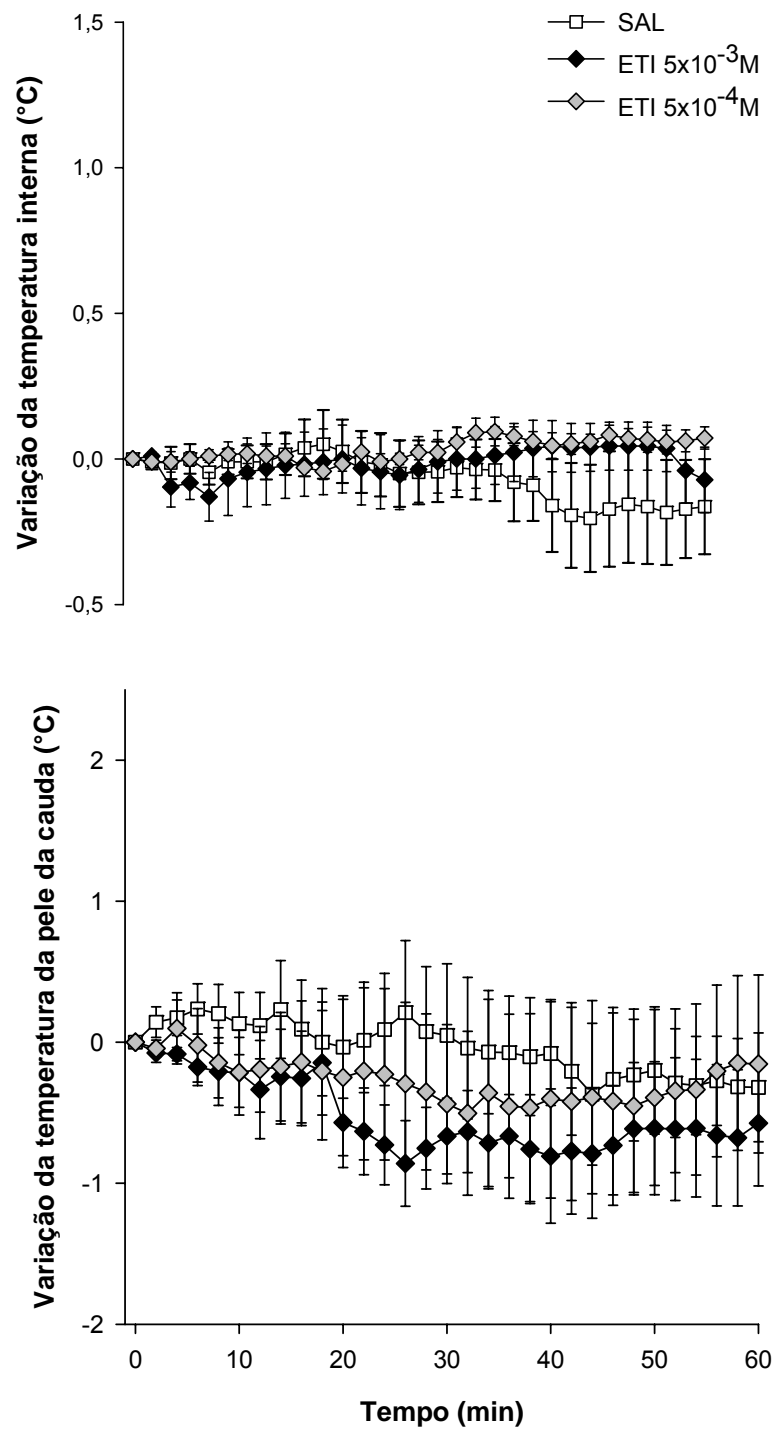


Figura 7. Efeito da microinjeção i.c.v. de 2 μ L de solução salina 0,15 M (SAL) ou ETI 5×10^{-3} (D_2) ou ETI 5×10^{-4} M sobre a variação das temperaturas interna (painel superior) e da pele da cauda (painel inferior), durante 60 min, em animais em repouso ($T_{\text{ambiente}} 22^\circ\text{C}$). Dados expressos como média \pm E.P.M., $n = 4$ em cada tratamento.

5.2 EXERCÍCIO

5.2.1 Efeito do bloqueio intracerebroventricular dos receptores D₁ ou D₂ sobre o tempo total de exercício contínuo até a fadiga.

A figura 8 mostra os valores médios do tempo total de exercício após as injeções intracerebroventricular de salina 0,15 M ou de SCH 233390 5×10^{-3} M (D₁) ou ETI 5×10^{-3} M (D₂) de animais submetidos ao exercício contínuo até a fadiga ($v = 18 \text{ m} \cdot \text{min}^{-1}$, 5% inclinação, $T_{\text{ambiente}} 22^{\circ}\text{C}$). A microinjeção de SCH antecipou o momento da fadiga ($12,5 \pm 0,92 \text{ min}$, $p < 0,05$) quando comparados ao grupo controle ($25,86 \pm 5,3 \text{ min}$) e ao tratamento com ETI ($18 \pm 2,01 \text{ min}$). Por outro lado, a microinjeção de ETI não alterou o desempenho dos ratos, quando comparado ao SAL.

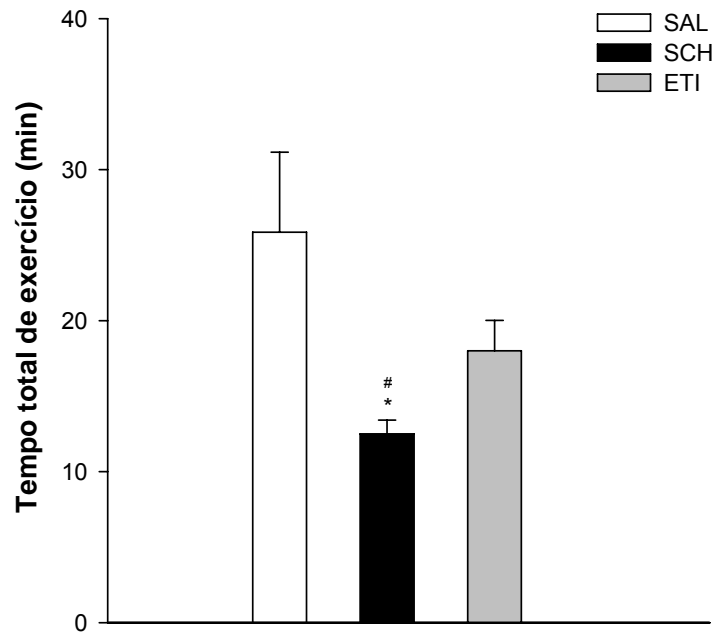


Figura 8. Efeito da microinjeção i.c.v. de 2 μL de solução salina 0,15 M (SAL) ou SCH 23390 5×10^{-3} M (SCH) (D_1) ou ETI 5×10^{-3} M (ETI) (D_2) sobre o tempo total de exercício durante o exercício contínuo ($v = 18 \text{ m} \cdot \text{min}^{-1}$, 5% inclinação, $T_{\text{ambiente}} 22^\circ\text{C}$) até a fadiga. Dados expressos como média \pm E.P.M., $n = 6$ em cada tratamento. * $p < 0,05$ SCH versus SAL; # $p < 0,05$ SCH versus ETI.

5.2.2 Efeito do bloqueio intracerebroventricular dos receptores D₁ ou D₂ sobre as temperaturas interna e da cauda de ratos submetidos ao exercício contínuo até a fadiga.

A figura 9 mostra os valores médios das temperaturas interna (°C) no painel superior e da cauda (°C) no painel inferior, ao longo do exercício de intensidade contínua até a fadiga ($v= 18 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$, 5% inclinação, $T_{\text{ambiente}} 22^{\circ}\text{C}$), após a microinjeção intracerebroventricular de 2 μL de salina 0,15 M ou SCH 233390 5×10^{-3} M ou ETI 5×10^{-3} M.

As temperaturas internas dos ratos tratados com SCH e ETI não foram diferentes do grupo salina ao longo do exercício. No grupo SCH, aos 11 min, a temperatura interna foi maior quando comparado com ETI. (SCH: $38,75 \pm 0,24^{\circ}\text{C}$ versus ETI: $38,24 \pm 0,14^{\circ}\text{C}$, $p < 0,05$).

Ao longo do exercício ocorreu um menor aumento na temperatura da pele da cauda no grupo SCH, quando comparado ao grupo SAL, a partir do 9º min (9 min: SCH: $26,58 \pm 1,02^{\circ}\text{C}$ versus SAL $28,08 \pm 0,51^{\circ}\text{C}$, $p < 0,05$) até o momento da fadiga (SCH: $28,64 \pm 0,90^{\circ}\text{C}$ versus SAL: $30,20 \pm 0,41^{\circ}\text{C}$, $p < 0,05$), evidenciando hipertermia mais acentuada no grupo SCH. Além disso, não foi observado o platô para as temperaturas interna e da cauda para esse grupo, ou seja, o equilíbrio térmico não foi alcançado durante o exercício até a fadiga.

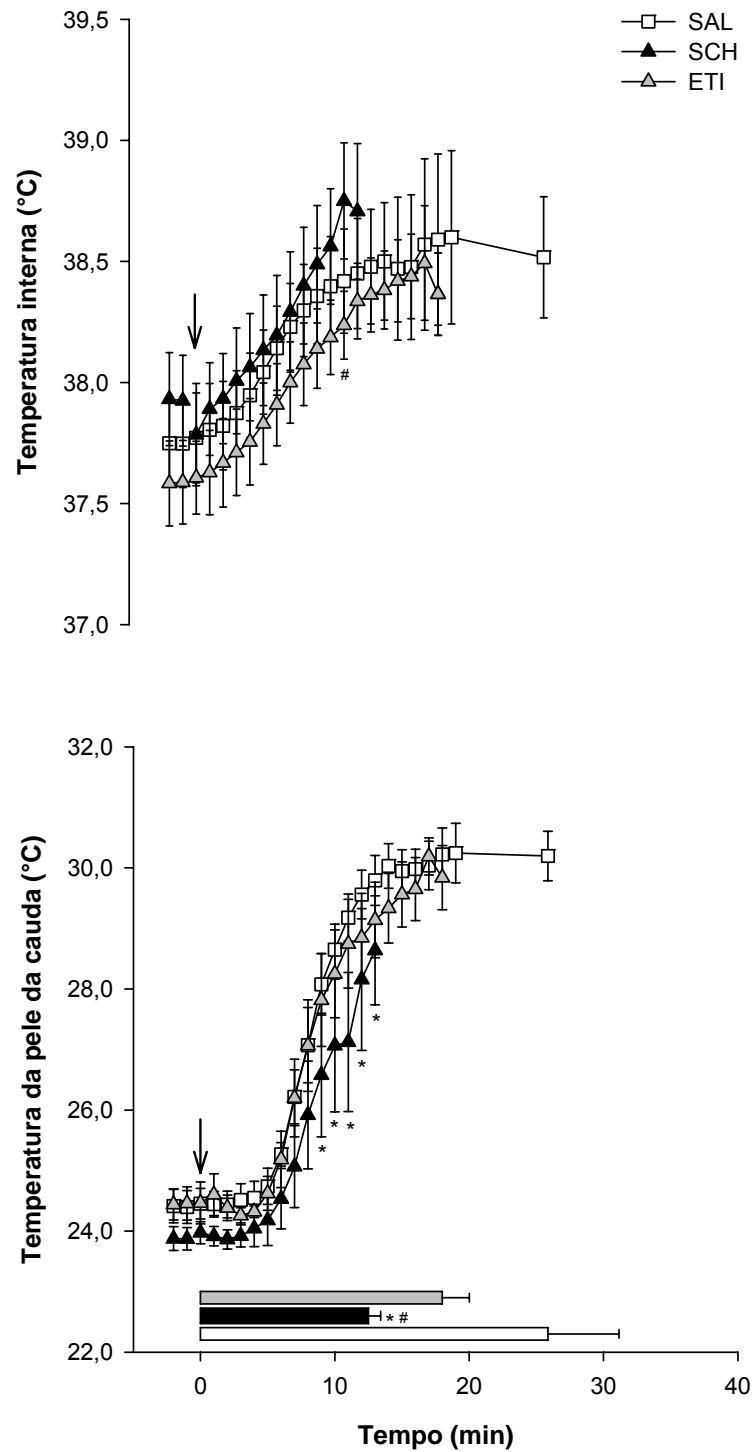


Figura 9. Efeito da microinjeção i.c.v. de 2 μ L de solução salina 0,15 M (SAL) ou SCH 23390 5×10^{-3} M (SCH) (D_1) ou ETI 5×10^{-3} M (ETI) (D_2) sobre a temperatura interna (painel superior) e temperatura da pele da cauda (painel inferior), durante o exercício contínuo ($v = 18 \text{ m} \cdot \text{min}^{-1}$, 5% inclinação, $T_{\text{ambiente}} 22^\circ\text{C}$) até a fadiga. A seta (\downarrow) indica o início do exercício. As barras horizontais representam o tempo total de exercício para cada tratamento. Dados expressos como média \pm E.P.M., $n = 6$, em cada tratamento. * $p < 0,05$ SCH versus SAL; # $p < 0,05$ SCH versus ETI.

5.2.3 Efeito do bloqueio intracerebroventricular dos receptores D₁ ou D₂ sobre o limiar de temperatura interna para a vasodilatação da cauda (TTcV) e sobre o índice de dissipação de calor de ratos submetidos ao exercício contínuo até a fadiga.

A figura 10 mostra os valores médios do efeito dos bloqueadores dopaminérgicos sobre o limiar para a vasodilatação da cauda (TTcV, °C) dos animais submetidos ao exercício contínuo até a fadiga ($v= 18 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$, 5% inclinação, $T_{\text{ambiente}} 22^{\circ}\text{C}$), após a microinjeção i.c.v. de salina, ou SCH 23390, ou eticloprida. Para os três tratamentos, $n= 6$, não foi observada diferença para o TTcV, entre os grupos (SAL: $38,09 \pm 0,20^{\circ}\text{C}$ versus SCH $38,4 \pm 0,25^{\circ}\text{C}$ versus ETI $37,96 \pm 0,18^{\circ}\text{C}$, $p= 0,087$).

A figura 11 apresenta os valores médios do índice de dissipação de calor (IDC) após as injeções intracerebroventricular de salina 0,15 M, ou de SCH 23390 5×10^{-3} M ou ETI 5×10^{-3} M, durante a realização do exercício contínuo ($v= 18 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$) até a fadiga.

Para todos os tratamentos, o IDC mostrou-se diferente a partir do 7º min. Para o grupo SAL, a diferença entre o 0 e 7 min foi de $0,10 \pm 0,03$ ($p < 0,05$), para o SCH de $0,06 \pm 0,03$ ($p < 0,05$) e para o ETI a diferença encontrada foi de $0,11 \pm 0,04$ ($p < 0,05$) e assim permaneceram até o momento da fadiga. Na curva de evolução temporal do IDC, verificou-se diferença entre os grupos SCH e SAL a partir do 9º minuto até à fadiga (fadiga SAL: $0,48 \pm 0,02$ versus fadiga SCH: $0,37 \pm 0,06$, $p < 0,05$), evidenciando menor dissipação de calor no grupo SCH. Não se observou diferença entre os grupos ETI e SAL, e SCH e ETI ao longo do tempo, como na fadiga, para essa variável.

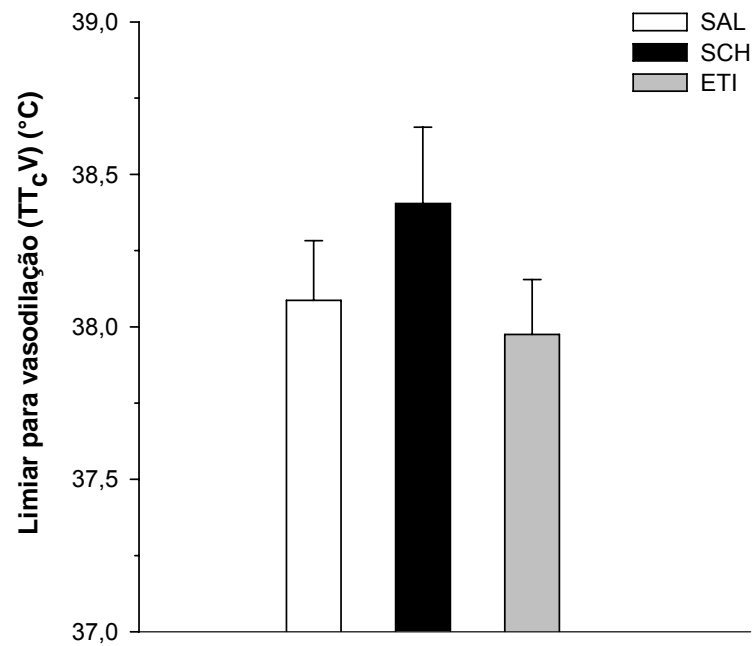


Figura 10. Efeito da microinjeção i.c.v. de 2 μL de solução salina 0,15 M (SAL) ou SCH 23390 5×10^{-3} M (SCH) (D_1) ou ETI 5×10^{-3} M (ETI) (D_2) sobre o limiar para vasodilatação da cauda de ratos (TTcV, °C), durante a realização de exercício contínuo ($v = 18 \text{ m} \cdot \text{min}^{-1}$, 5% inclinação, $T_{\text{ambiente}} 22^\circ\text{C}$) até a fadiga. Dados expressos como média \pm E.P.M., $n = 6$, em cada tratamento.

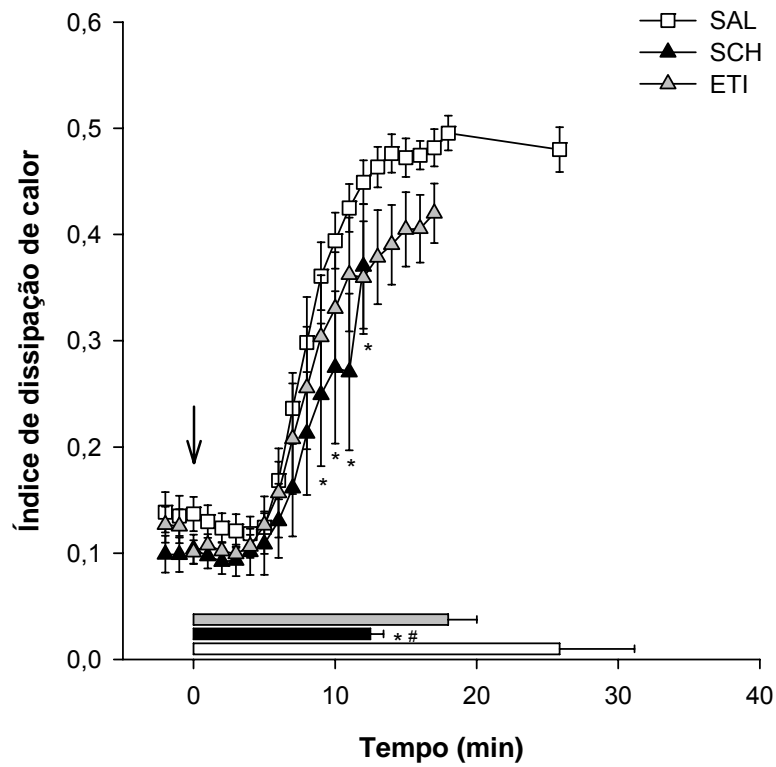


Figura 11. Efeito da microinjeção i.c.v. de 2 μL de solução salina 0,15 M (SAL) ou SCH 23390 5×10^{-3} M (SCH) (D_1) ou ETI 5×10^{-3} M (ETI) (D_2) sobre o índice de dissipação de calor, durante a realização de exercício contínuo ($v = 18 \text{ m} \cdot \text{min}^{-1}$, 5% inclinação, $T_{\text{ambiente}} 22^\circ\text{C}$) até a fadiga. A seta (\downarrow) indica o início do exercício. Dados expressos como média \pm E.P.M., $n = 6$, em cada tratamento. * $p < 0,05$ SCH versus SAL, # $p < 0,05$ SCH versus ETI.

5.2.4 Efeito do bloqueio intracerebroventricular dos receptores D₁ ou D₂ sobre o limiar de temperatura interna para a vasodilatação da cauda em relação ao percentual do tempo total de exercício.

A figura 12 apresenta os valores médios da temperatura da cauda (°C) em relação ao percentual do tempo total de exercício (% TTE) contínuo até a fadiga ($v = 18 \text{ m} \cdot \text{min}^{-1}$, 5% inclinação, $T_{\text{ambiente}} 22^{\circ}\text{C}$), após a microinjeção no ventrículo cerebral lateral direito de 2 μL de salina (0,15 M), de SCH 233390 ($5 \times 10^{-3} \text{ M}$) ou de ETI ($5 \times 10^{-3} \text{ M}$).

Os tratamentos com SCH e ETI promoveram alteração na temperatura da cauda em relação ao percentual do TTE quando comparados ao controle e entre si. Quando injetado SCH centralmente, a temperatura foi mais baixa em 2,75 °C, comparada ao SAL, a partir de 30% do TTE (SCH 30% TTE: $23,87 \pm 0,18^{\circ}\text{C}$ versus SAL 30% TTE: $26,62 \pm 0,84^{\circ}\text{C}$, $p < 0,05$). Quando comparado ao ETI, essa diferença foi de 2,11 °C, de 50 a 80% TTE (SCH 50% TTE: $24,38 \pm 0,40^{\circ}\text{C}$ versus ETI 50% TTE: $26,49 \pm 0,92^{\circ}\text{C}$; SCH 80% TTE: $27,44 \pm 0,76^{\circ}\text{C}$ versus ETI 80% TTE: $29,28 \pm 0,97^{\circ}\text{C}$, $p < 0,05$). A microinjeção de ETI foi menor em relação ao controle em 2,19 °C, de 30 a 50% do tempo total de exercício (ETI 30% TTE: $24,43 \pm 0,25^{\circ}\text{C}$ versus SAL 30% TTE: $26,62 \pm 0,84^{\circ}\text{C}$; ETI 50% TTE: $26,49 \pm 0,92^{\circ}\text{C}$ versus SAL 50% TTE: $28,89 \pm 0,67^{\circ}\text{C}$, $p < 0,05$).

Quando comparados ao nadir, a temperatura da cauda dos ratos do grupo controle foi maior em $2,17 \pm 0,79^{\circ}\text{C}$ a partir de 30% do TTE. Nos animais tratados com SCH, esse aumento foi de $2,35 \pm 0,75^{\circ}\text{C}$, observado somente a partir de 70% TTE ($p < 0,05$) e, para ETI, de $2,34 \pm 0,81^{\circ}\text{C}$, a partir de 50% TTE ($p < 0,05$).

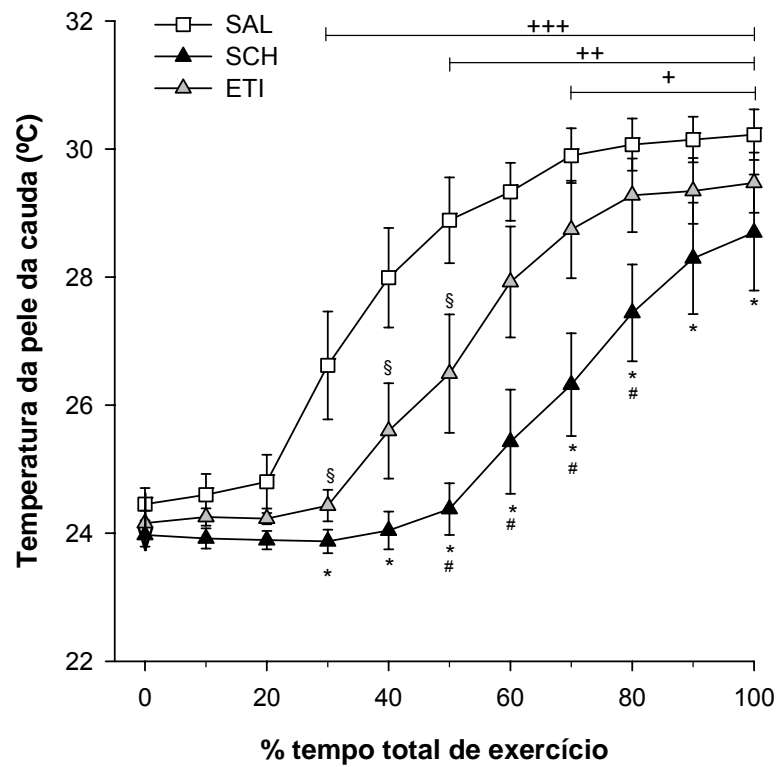


Figura 12. Efeito da microinjeção i.c.v. de 2 μL de solução salina 0,15 M (SAL) ou SCH 23390 5×10^{-3} M (SCH) (D_1) ou ETI 5×10^{-3} M (ETI) (D_2) sobre a temperatura da cauda ($^{\circ}\text{C}$) em relação ao percentual do tempo total de exercício ($v = 18 \text{ m} \cdot \text{min}^{-1}$, 5% inclinação, $T_{\text{ambiente}} 22^{\circ}\text{C}$) até a fadiga. Dados expressos como média \pm E.P.M., $n = 6$, em cada tratamento. +, ++, +++: $p < 0,05$ para SCH, ETI e SAL, comparado ao nadir, respectivamente. * $p < 0,05$ SCH versus SAL, # $p < 0,05$ SCH versus ETI; § $p < 0,05$ ETI versus SAL

5.2.5 Efeito do bloqueio intracerebroventricular dos receptores D₁ ou D₂ sobre a taxa de acúmulo de calor de ratos submetidos ao exercício contínuo até a fadiga.

A figura 13 apresenta os valores médios do efeito da microinjeção i.c.v. de salina 0,15 M ou SCH 23390 5×10^{-3} M ou eticloprida 5×10^{-3} M sobre a taxa de acúmulo de calor (TAC, $\text{cal} \cdot \text{min}^{-1}$), durante o exercício contínuo ($v = 18 \text{ m} \cdot \text{min}^{-1}$, 5% de inclinação, $T_{\text{ambiente}} 22^\circ\text{C}$) até a fadiga, $n = 6$, em cada tratamento.

O tratamento com a microinjeção central de SCH aumentou em 93% a taxa de acúmulo de calor dos ratos em comparação ao controle ($p < 0,05$), e de 52% se comparado ao ETI ($p < 0,05$). A microinjeção de ETI não alterou a TAC durante o exercício quando comparado ao grupo SAL. Ademais, a taxa de acúmulo de calor dos grupos correlacionou-se negativamente com o trabalho realizado ($r = 0,576$, $p < 0,05$).

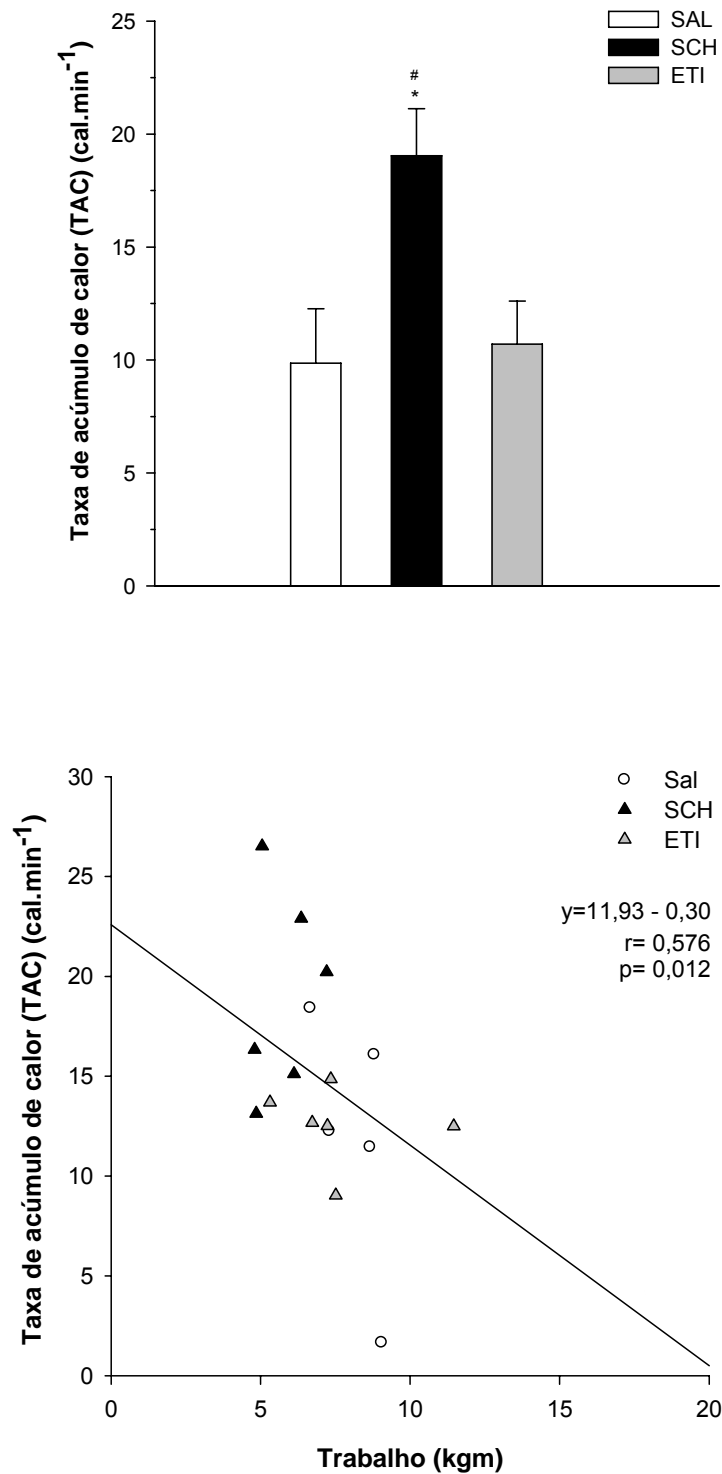


Figura 13. Efeito da microinjeção i.c.v. de 2 μ L de solução salina 0,15 M (SAL) ou SCH 23390 5×10^{-3} M (SCH) (D₁) ou ETI 5×10^{-3} M (ETI) (D₂) sobre a taxa de acúmulo de calor (TAC, cal·min⁻¹) de ratos submetidos ao exercício contínuo ($v = 18$ m·min⁻¹, 5% inclinação, $T_{\text{ambiente}} = 22^{\circ}\text{C}$) até a fadiga. Dados expressos como média \pm E.P.M., $n = 6$, em cada tratamento. * $p < 0,05$ SCH versus SAL; # $p < 0,05$ SCH versus ETI. O painel inferior mostra a correlação negativa entre a taxa de acúmulo de calor (cal·min⁻¹) e o trabalho realizado (kgm).

5.2.6 Efeito do bloqueio intracerebroventricular dos receptores D₁ ou D₂ sobre a taxa de elevação da temperatura corporal (TET) de ratos submetidos ao exercício contínuo até a fadiga.

A figura 14 apresenta os valores médios do efeito da microinjeção i.c.v. de salina ou SCH 23390 ou eticloprida sobre a taxa de elevação da temperatura corporal (TET, °C·min⁻¹), durante o exercício contínuo ($v= 18 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$, 5% inclinação, $T_{\text{ambiente}} 22^{\circ}\text{C}$) até a fadiga, $n= 6$, em cada tratamento (painel superior) e a correlação entre a taxa de elevação da temperatura corporal (°C·min⁻¹) e o tempo total de exercício (min).

O tratamento com SCH fez com que a elevação da temperatura intraperitoneal fosse maior em 75% em relação à microinjeção de SAL ($p < 0,05$) e de 40% à de ETI ($p < 0,05$). A microinjeção de ETI não provocou alterações na TET. Além disso, a taxa de elevação da temperatura corporal correlacionou-se negativamente com o tempo total de exercício ($r = 0,618$, $p < 0,05$).

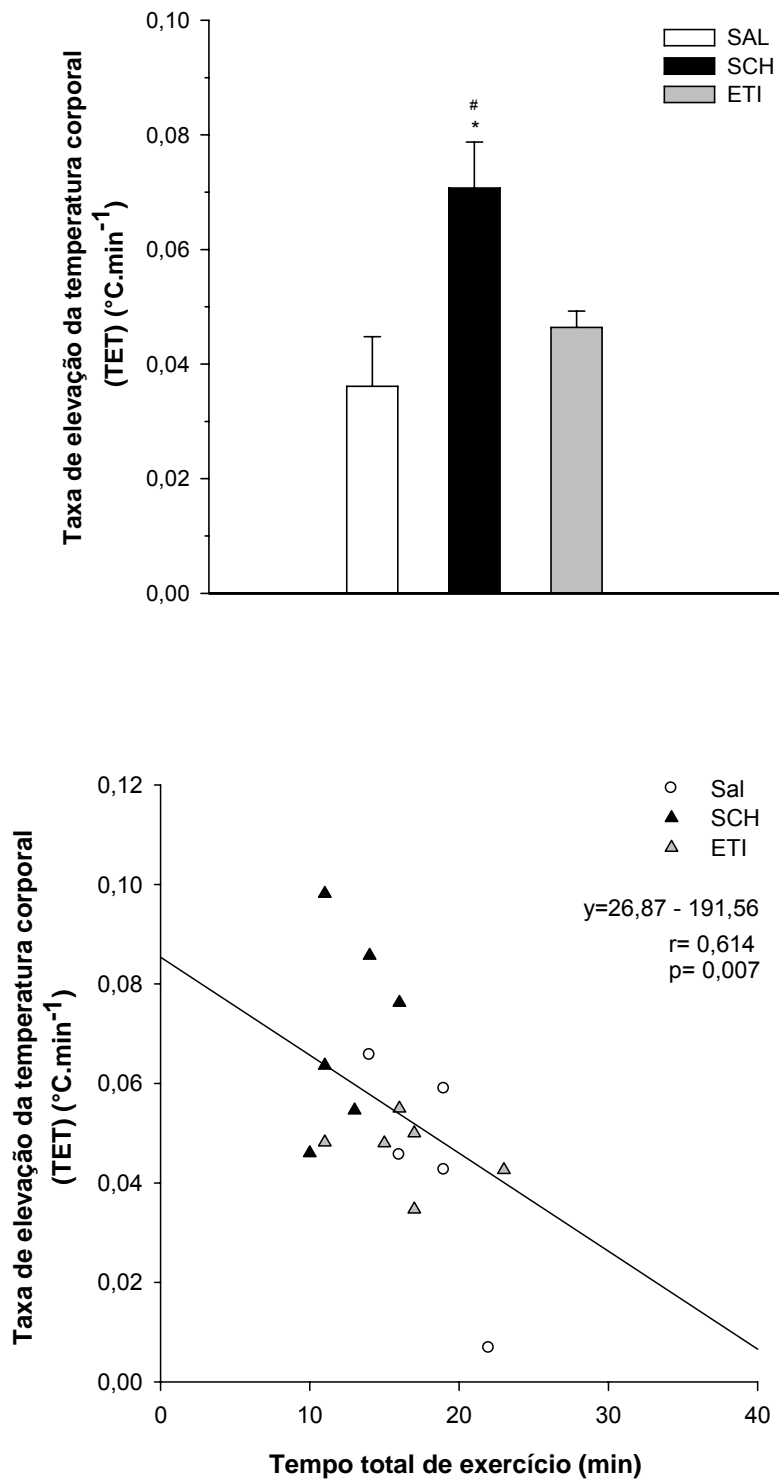


Figura 14. Efeito da microinjeção i.c.v. de 2 μL de solução salina 0,15 M (SAL) ou SCH 23390 5×10^{-3} M (SCH) (D_1) ou ETI 5×10^{-3} M (ETI) (D_2) sobre a taxa de elevação da temperatura corporal (TET, $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$) de ratos submetidos ao exercício contínuo ($v = 18 \text{ m} \cdot \text{min}^{-1}$, 5% inclinação, $T_{\text{ambiente}} 22^{\circ}\text{C}$) até a fadiga. Dados expressos como média \pm E.P.M., $n = 6$, em cada tratamento. * $p < 0,05$ SCH versus SAL; # $p < 0,05$ SCH versus ETI. O painel inferior mostra a correlação negativa entre a taxa de elevação da corporal ($^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$) e o tempo total de exercício (min).

5.3 PÓS-EXERCÍCIO

5.3.1 Efeito do bloqueio intracerebroventricular dos receptores D₁ ou D₂ sobre a temperatura interna e da cauda durante o período de 30 min pós-exercício, de ratos submetidos ao exercício contínuo até a fadiga.

A figura 15 apresenta os valores médios das temperaturas interna (°C), no painel superior, e da pele da cauda (°C), no painel inferior, durante o período pós-exercício dos animais submetidos ao exercício contínuo até a fadiga, após a microinjeção no ventrículo cerebral lateral direito de 2 µL de salina 0,15 M, de SCH 233390 5×10^{-3} M ou ETI 5×10^{-3} M.

A temperatura interna dos ratos, tratados com SCH e ETI, mostrou uma redução após a fadiga, observada a partir do 16º min, permanecendo reduzida até os 30 min pós-exercício, quando o grupo SCH ainda apresentava uma hipertermia de $38,38 \pm 0,28$ °C e o ETI $37,96 \pm 0,16$ °C. Quando injetado SAL i.c.v., a redução na temperatura foi observada a partir do 20º min, mantendo-se reduzida até o final do período analisado com $38,19 \pm 0,16$ °C. Ao final do período de 30 min, a temperatura interna para os três tratamentos ainda era maior que os valores pré-exercício (SAL: $+ 0,44 \pm 0,05$ °C; SCH: $0,45 \pm 0,14$ °C; ETI: $0,37 \pm 0,08$ °C, $p < 0,05$). Não foram observadas diferenças entre os tratamentos, ao longo do período observado e ao final dos 30 min pós-exercício.

A temperatura da pele da cauda, dos animais tratados com ETI e SAL, demonstrou uma redução a partir do 8º min, permanecendo reduzida até os 30 min finais do pós-exercício, quando o grupo ETI apresentava a temperatura da cauda de $25,16 \pm 0,18$ °C e SAL $25,84 \pm 0,67$ °C. Os ratos que receberam a microinjeção i.c.v. de SCH evidenciaram a redução da temperatura a partir do 10º min do término do exercício, sendo que, ao final dos 30 min, a média do valor observado foi de $24,51 \pm 0,13$ °C.

Ao final do período pós-exercício, a temperatura da pele da cauda para os três tratamentos ainda era maior que os valores pré-exercício (SAL: $+ 1,44 \pm 0,72$ °C; SCH: $0,64 \pm 0,13$ °C; ETI: $0,71 \pm 0,21$ °C, $p < 0,05$). Não foram observadas diferenças entre os tratamentos, ao longo do período observado. Ao final dos 30 min pós-exercício, a temperatura da pele da cauda dos animais tratados com SCH foi menor que a do grupo SAL.

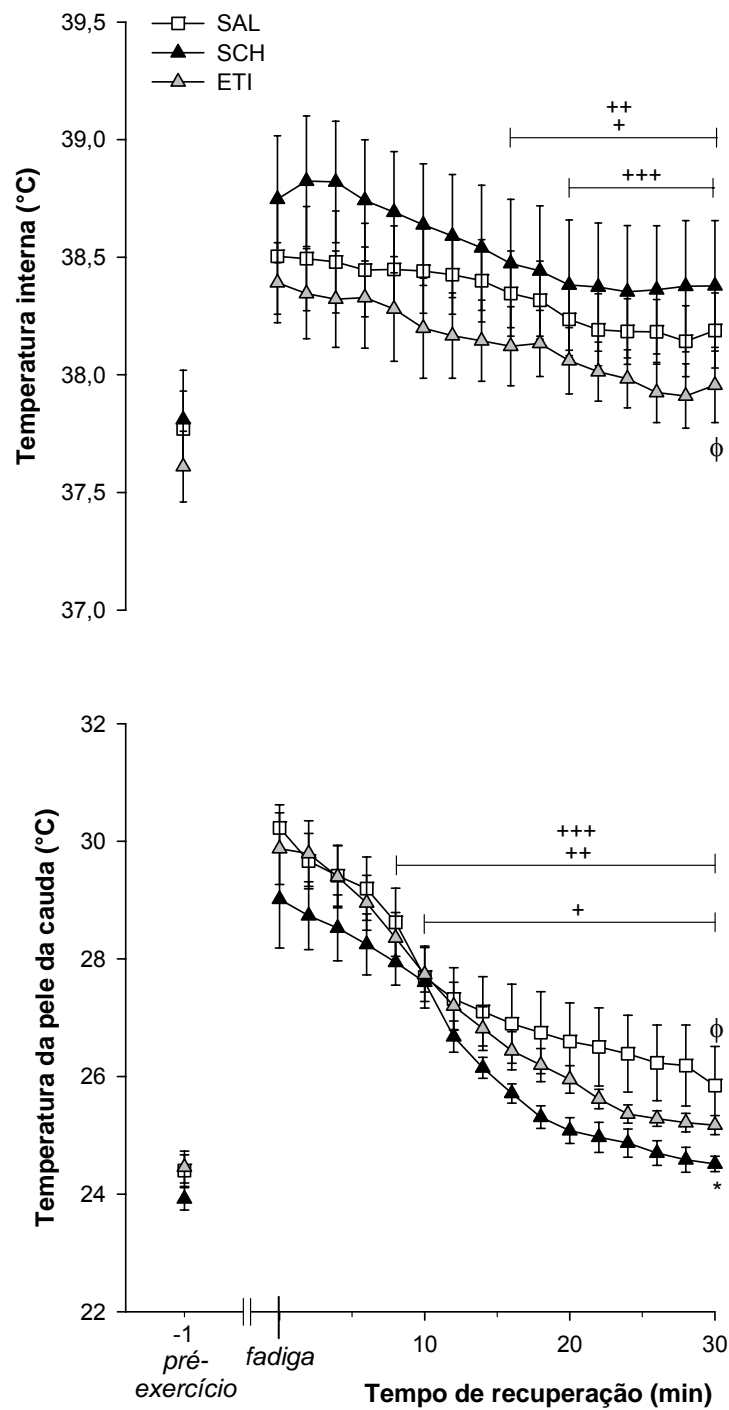


Figura 15. Efeito da microinjeção i.c.v. de 2 μL de solução salina 0,15 M (SAL) ou SCH 23390 5×10^{-3} M (SCH) (D_1) ou ETI 5×10^{-3} M (ETI) (D_2) sobre a temperatura interna (painel superior) e temperatura da cauda (painel inferior), durante o período pós-exercício de ratos submetidos ao exercício contínuo ($v = 18 \text{ m} \cdot \text{min}^{-1}$, 5% inclinação, $T_{\text{ambiente}} 22^\circ\text{C}$) até a fadiga. Dados expressos como média \pm E.P.M., $n = 6$, em cada tratamento. * $p < 0,05$ SCH versus SAL; Φ $p < 0,05$ comparado aos valores pré-exercício. +; ++ e +++: $p < 0,05$ para SCH, ETI e SAL comparado ao momento da fadiga, respectivamente.

5.3.2 Efeito do bloqueio intracerebroventricular dos receptores D₁ ou D₂ sobre a taxa de resfriamento corporal durante o período de 30 min pós-exercício, de ratos submetidos ao exercício contínuo até a fadiga.

A figura 16 mostra os valores médios da taxa de resfriamento corporal durante o período de 30 min pós-exercício dos animais submetidos ao exercício contínuo até a fadiga, após a microinjeção i.c.v. de 2 µL de salina 0,15 M, ou de SCH 233390 5x10⁻³ M ou ETI 5x10⁻³ M.

Tanto aos 15, como aos 30 min do período analisado, não houve diferença entre os tratamentos.

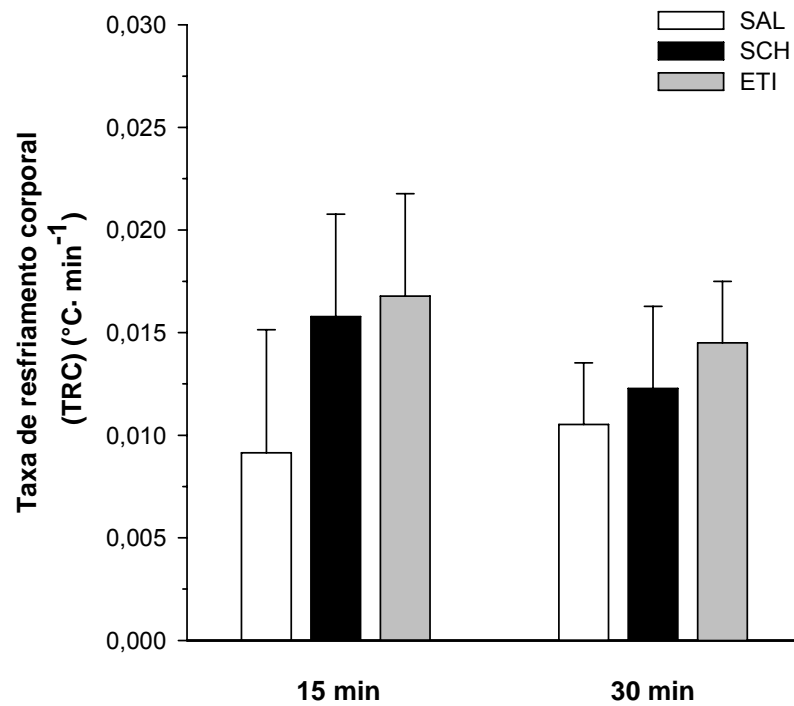


Figura 16. Efeito da microinjeção i.c.v. de 2 μL de solução salina 0,15 M (SAL) ou SCH 23390 5×10^{-3} M (SCH) (D_1) ou ETI 5×10^{-3} M (ETI) (D_2) sobre a taxa de resfriamento corporal aos 15 e 30 min do período pós-exercício de ratos submetidos ao exercício contínuo ($v = 18 \text{ m} \cdot \text{min}^{-1}$, 5% inclinação, $T_{\text{ambiente}} 22^\circ\text{C}$) até a fadiga. Dados expressos como média \pm E.P.M., $n = 6$, em cada tratamento.

6 DISCUSSÃO

Os dados do presente estudo mostram que o bloqueio do tônus dopaminérgico central, mediado pelos receptores D_1 , pela da microinjeção central i.c.v. de SCH 23390, imediatamente antes do exercício, promoveu retardo na dissipação de calor, ocasionando aumento nas taxas de acúmulo de calor e de elevação da temperatura corporal, com conseqüente redução do tempo total de exercício nos animais submetidos ao exercício contínuo submáximo até a fadiga. Além disso, a inibição central do tônus dopaminérgico, mediado pelos receptores D_2 , por meio da microinjeção central de eticloprida, também ocasionou um retardo na dissipação de calor. Entretanto, essa alteração na resposta termorregulatória nesse grupo não foi suficiente para alterar o desempenho dos ratos. O atraso do início da vasodilatação da cauda após o bloqueio dos receptores D_1 em 40% e D_2 em 20% do tempo total de exercício (figura 12) comparado ao controle, sugere que as vias dopaminérgicas, durante o exercício, estão envolvidas no controle termorregulatório, especialmente na regulação dos mecanismos responsáveis pela dissipação de calor (figura 11).

Há evidências de que a parte rostral da área tegumental ventral está envolvida no controle da pressão arterial e do tônus vasomotor (ZHANG et al., 1997). A estimulação da VTA, com o ácido homocisteínico, foi capaz de reduzir a pressão sanguínea e a temperatura da pele da cauda de ratos anestesiados (ZHANG et al., 1997), evidenciando o envolvimento da via dopaminérgica mesolímbica e mesocortical no controle da termorregulação. De forma similar, lesões elétricas dos neurônios da substância negra reduzem os mecanismos envolvidos na perda de calor (BROWN, GISOLFI e MORA, 1982) e evidenciam que a via túbero-hipofisária, cujos neurônios dopaminérgicos projetam-se diretamente da substância negra para a área pré-óptica e o hipotálamo anterior (KIYOHARA et al., 1984), também participa do controle central da temperatura corporal.

É possível que a redução do desempenho, bem como a alteração nos mecanismos de dissipação de calor, observados no presente estudo com a inibição dos receptores dopaminérgicos centrais esteja associada a um aumento no tônus serotonérgico no SNC dos animais. Durante o exercício, além do aumento na concentração de

dopamina, ocorre também o aumento da atividade central da serotonina (DAVIS e BAILEY, 1997, SOARES, COIMBRA e MARUBAYASHI, 2007). A atividade da dopamina (DA) e da serotonina (5-HT) na POA/AH relaciona-se com o controle da termorregulação, mediando respostas como a vasodilatação da cauda em ratos (COX et al., 1980, HASEGAWA et al., 2000) e a tolerância ao exercício no ambiente quente (BRIDGE et al., 2003). O aumento da concentração de serotonina na área pré-óptica e no hipotálamo tem sido associado ao aumento da produção de calor de ratos submetidos ao exercício (SOARES, COIMBRA e MARUBAYASHI, 2007). Assim, o aumento da atividade serotoninérgica, associado à redução da dopaminérgica, devido ao seu bloqueio central, realizado no presente trabalho, poderia contribuir para o início da fadiga. A hipótese de que o aumento na concentração de serotonina contribui para a fadiga, através da inibição do sistema dopaminérgico, foi testada por BAILEY, DAVIS, AHLBORN (1993b) que mostraram que a administração de um agonista serotoninérgico geral (dimaleato de quipazina; 1mg/kg, i.p.) bloqueia o aumento de dopamina induzido pelo exercício físico, enquanto a administração de um antagonista serotoninérgico para receptores 1C e 2 (LY 53857; 1,5mg/kg, i.p.) previne a diminuição de dopamina e seus metabólitos no momento da fadiga. De fato, a ativação farmacológica de serotonina não só inibe a dopamina como adianta o momento da fadiga e, de modo inverso, a inibição serotoninérgica retira a inibição dopaminérgica aumentando o tempo de exercício até a fadiga (BAILEY, DAVIS, AHLBORN, 1993b). Esses resultados indicam que a razão 5-HT/DA pode ser importante para o desenvolvimento da fadiga central, e que essa relação elevada estaria associada com a sensação de cansaço e motivação reduzida (FOLEY e FLESHNER, 2008). Ademais, a atividade dessas monoaminas no SNC modulam o aumento da liberação de hormônios neuroendócrinos (MELTZER, FLEMMING, ROBERTSON, 1983) e mudanças comportamentais que parecem culminar na perda da motivação em continuar a realização do exercício físico.

No presente estudo, a microinjeção intracerebroventricular dos antagonistas dopaminérgicos pode ter ocasionado a difusão dos fármacos para áreas periventriculares, atingindo os centros termorregulatórios, como a área POA/AH. Embora não tenha sido medida a atividade catecolaminérgica cerebral, é provável que a inibição da dopamina central tenha exercido influência nos mecanismos de dissipação de calor pelo aumento da atividade simpática dos vasos cutâneos durante

o exercício, retardando o início da vasodilatação da pele da cauda dos animais, com influência na redução do seu desempenho físico. Esse provável mecanismo parece, portanto, também indicar o envolvimento da DA no controle termorregulatório durante o exercício físico. Nesse sentido, foi visto que o exercício é capaz de induzir à formação de Fos nos neurônios localizados no corpo estriado medial e núcleo acumbens, onde existe elevada densidade de receptores e terminações dopaminérgicas, especificamente via D₁ (LISTE et al., 1997). O exercício também pode promover o aumento da concentração de DA e DOPAC no hipotálamo e na área pré-óptica, tanto após 20 min de exercício em esteira, como na fadiga (BALTHAZAR et al., 2009), indicando o aumento da atividade dopaminérgica central (BEN-JONATHAN e HNASKO, 2001).

A área pré-óptica do hipotálamo é considerada o local primário da regulação da temperatura corporal (GORDON, 1993, NAGASHIMA et al., 2000, ISHIWATA et al., 2002, ROMANOVSKY, 2007), sendo considerada uma região de integração da homeostase metabólica (COIMBRA e MIGLIORINI, 1986, 1988, SANTOS, LEITE, COIMBRA, 1991), vasomotora e termorregulatória tanto durante o repouso, como no exercício (HASEGAWA et al., 2005a). O hipotálamo e o núcleo do trato solitário (NTS) são vistos como os principais *locus* de integração das funções do sistema nervoso autônomo, incluindo a regulação da temperatura corporal (GOODMAN e GILMAN, 2007). A estimulação do NTS e do HP ativa as vias bulbo espinhais e o débito hormonal que medeiam as respostas autonômicas e motoras (ANDRESEN e KUNZE, 1994). Os núcleos hipotalâmicos que se situam posterior e lateralmente são simpáticos em suas principais conexões, ao passo que as funções parassimpáticas são integradas pelos núcleos da linha média, na região do túber cinéreo, e pelos núcleos que se situam anteriormente. As respostas autônomas e somáticas ocorrem devido à ativação isolada de neurônios simpáticos e parassimpáticos, como também a ativação generalizada desses nervos, com padrões altamente integrados de resposta, que são geralmente organizados no nível hipotalâmico, envolvendo componentes autônomos, endócrinos e comportamentais (GOODMAN e GILMAN, 2007).

Para prevenir a hipertermia durante o exercício, é necessária maior ativação dos mecanismos de perda de calor, o que pode envolver o metabolismo dopaminérgico

na POA/AH (HASEGAWA et al., 2000, 2005a). A microinjeção no hipotálamo anterior de noradrenalina e apomorfina, agonista dos receptores D₁ e D₂, antes da realização do exercício, promoveu efeitos hipotérmicos nos ratos, mostrando que o sistema termorregulatório é susceptível tanto aos efeitos da noradrenalina como da dopamina (GISOLFI et al, 1980a, GISOLFI e CHRISTMAN., 1980b).

Foi verificado que a inibição da recaptção de noradrenalina e dopamina, através da microinjeção periférica de bupropiona, inibidor da recaptção de dopamina e noradrenalina, aumenta o tempo de corrida de ratos até a fadiga, assim como a concentração de NE e DA na POA/AH (HASEGAWA et al., 2005b). Entretanto, a microinjeção desse fármaco não foi capaz de aumentar o conteúdo de 5-HT no cérebro desses animais. Esses resultados podem indicar que a manipulação do sistema catecolaminérgico no centro termorregulatório parece prevalecer sobre os mecanismos inibitórios oriundos do SNC, aumentando o desempenho dos animais (HASEGAWA et al., 2005b, BALTHAZAR et al., 2009), o que, em termos de manutenção da homeostase, significaria um risco.

Embora tenhamos observado correlação negativa entre a taxa de acúmulo de calor e o trabalho total realizado (figura 13) e entre a taxa de aquecimento corporal e o tempo total de exercício (figura 14), evidenciando que o acúmulo de calor nos animais influenciou no total de trabalho produzido durante o exercício e no seu desempenho, não podemos afirmar que o maior acúmulo de calor foi o único fator determinante para a interrupção do exercício.

A redução da neurotransmissão dopaminérgica, durante o exercício físico, parece contribuir para o desenvolvimento da fadiga central por afetar negativamente os neurocircuitos dopaminérgicos envolvidos no controle do movimento e nos mecanismos de recompensa, pela sua participação no sistema límbico (FOLEY e FLESHNER, 2008). A substância negra é uma área cerebral relacionada ao início do movimento e possui alta densidade de neurônios dopaminérgicos, cujos corpos celulares estão localizados na região compacta (FREED e YAMOMOTO, 1985, MEUSSEN, PIANCENTINI, MEIRLEIR, 2001). O envolvimento dos receptores DA no controle do movimento ocorreria através dos receptores D₁ excitatórios, pela via direta, e D₂ inibitórios, pela indireta, sendo que os dois caminhos teriam início na

sustância negra compacta, com projeções DA para o putamen caudado. A via direta iniciaria com o ligação da dopamina, através dos receptores D₁, a neurônios não dopaminérgicos, GABAérgicos, no putamen caudado e substância negra reticulada, que, por sua vez, se ligariam aos neurônios glutamatérgicos, no tálamo e córtex motor (ADELL e ARTIGAS, 2004). No presente estudo, é provável que a inibição intracerebroventricular dos receptores D₁, com SCH 23390, tenha permitido o efeito inibitório dos neurônios GABAérgicos no caudado putamen sobre os neurônios glutamatérgicos, reduzindo a sua ação, no tálamo e, posteriormente, no córtex motor, contribuindo para a interrupção do movimento e antecipação da fadiga. Porém, pelo caminho indireto, o efeito inibitório, através dos receptores D₂, com a eticloprida, não foi observado na concentração utilizada do fármaco. Por esse caminho, em última análise, os receptores D₂ inibiriam a produção de GABA no putamen caudado e, garantiriam a liberação de glutamato no tálamo e córtex motor (ADELL e ARTIGAS, 2004). Assim, a ação do SCH 23390 e da eticloprida nas áreas periventriculares, além de provocar alterações nas respostas termorregulatórias, parece ter contribuído para a fadiga, no presente estudo, através da redução da neurotransmissão dopaminérgica da substância negra compacta e do caudado putamen, o que está relacionada aos mecanismos de controle do movimento.

Os dados do presente estudo evidenciaram que, ao contrário do observado durante o exercício, as mudanças nas respostas das temperaturas interna e da pele da cauda dos animais, após a microinjeção intracerebroventricular dos antagonistas dopaminérgicos não foram observadas durante o período de repouso (figuras 6 e 7) (BALTHAZAR et al., 2010, aceito para publicação). Portanto, nossos resultados sugerem que a inibição central dos receptores D₁ e D₂ possui um papel específico sobre a termorregulação durante o exercício contínuo até a fadiga. Esses achados são similares aos encontrados por BARROS, BRANCO e CÁRNIO (2004). Esses autores mostraram que, após a microinjeção central de SCH 23390, inibidor de D₁, e haloperidol, antagonista dos receptores D₂, ambos na concentração de 50 e 500 ng, na região pré-óptica anteroventral (AVPO), durante a situação de normóxia e hipóxia de ratos em repouso, a inibição dos receptores D₁, nessa área cerebral, não alterou a temperatura interna na situação de normóxia. Por outro lado, ao inibir D₂ com 500 ng, mostraram hipertermia durante o repouso.

Durante o período pós-exercício, os nossos resultados também mostram que não houve mudança na taxa de resfriamento corporal entre os tratamentos (figura 16). Entretanto, o tempo de observação pós exercício, em nosso estudo, pode não ter sido suficiente para que as temperaturas interna e da pele da cauda retornassem aos valores basais. HASEGAWA *et al.* (2000) observaram o retorno da temperatura interna igual ao período pré-exercício, somente após uma hora do término de um exercício contínuo ($v = 10 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$) realizado durante de 60 min. Ademais, a manutenção da hipertermia coincidiu com a concentração elevada de DOPAC e do ácido homovanílico, metabólitos dopaminérgicos, no hipotálamo anterior, até 20 minutos do mesmo período analisado (HASEGAWA *et al.*, 2000). Esses dados indicam que, se houvesse um período maior de observação em nosso estudo, as temperaturas poderiam retornar aos seus valores basais, tanto ao se inibir a dopamina central, como também para o grupo em que foi realizada a microinjeção de salina. A maior redução da temperatura interna observada no grupo SCH provavelmente aconteceu devido ao seu maior acúmulo de calor durante o exercício, uma vez que não se observou diferença da taxa de resfriamento corporal entre as situações analisadas (figura 13).

Por fim, os resultados do presente trabalho permitem dizer que a manutenção adequada do tônus dopaminérgico central é fundamental para a manutenção da homeostasia durante o exercício contínuo por participar de mecanismos determinantes para o controle termorregulatório.

7 CONCLUSÃO

O bloqueio prévio dos receptores dopaminérgicos centrais D_1 e D_2 possui um papel específico sobre a termorregulação durante o exercício contínuo até a fadiga, sendo que a inibição dos receptores D_1 aumenta a taxa de acúmulo de calor e antecipa a fadiga, reduzindo o desempenho físico dos ratos durante a realização de um exercício físico de intensidade contínua até a fadiga.

Porém, o bloqueio dos receptores D_2 , apesar de promover um retardo do início da perda de calor, não interfere no acúmulo de calor e no tempo de corrida até a fadiga.

Estes dados em conjunto evidenciam a importância da manutenção do tônus dopaminérgico central para a conservação da homeostasia durante o exercício físico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADELL, A.; ARTIGAS, F. The somatodendritic release of dopamine in the ventral tegmental área and its regulation by afferent transmitter systems. **Neuroscience and Behavioural Reviews**, 28: 415-431, 2004.

AMERICAN PHYSIOLOGICAL SOCIETY. Resource book for the design of animal exercise protocols, 2006.

ANDRESEN, M.C.; KUNZE, D.L. Nucleus tractus solitarius: Gateway to neural circulatory control. **Annu. Rev. Physiol.**, 56: 93-116, 1994. *In*: GOODMAN, L. S.; GILMAN, A. G. *As bases farmacológicas da terapêutica*. 11. ed. Rio de Janeiro: McGraw - Hill, c2007 1821 p.

ANTUNES-RODRIGUES, J.; MCCANN, S.M. Water, sodium chloride and food intake induced by injections of cholinergic and adrenergic drugs into the third ventricles of the rat brain. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, 133: 1461-1470, 1970.

BAILEY, S.P.; DAVIS, J.M.; AHLBORN, E.N. Neuroendocrine and substrate responses to altered brain 5-HT activity during prolonged exercise to fatigue. **Journal Applied Physiology**, 74(6): 3006-3012, 1993a.

BAILEY, S.P.; DAVIS, J.M.; AHLBORN, E.N. Serotonergic agonists and antagonists affect endurance performance in the rat. **International Journal Sports Medicine**, vol. 14, n.6, pp. 330-333, 1993b.

BALTHAZAR, C.H. **Tônus dopaminérgico central: efeito ergogênico e influência no balanço térmico e energético durante o exercício físico**. 2008, 99 f. Tese (doutorado). Departamento de Fisiologia e Biofísica. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2008.

BALTHAZAR, C.H.; LEITE, L.H.R.; RIBEIRO, R.M.M.; SOARES, D.D.; COIMBRA, C.C. Effects of blockade of central dopamine D1 and D2 receptors on thermoregulation, metabolic rate and running performance. **Pharmacological Reports**, 2010.

BALTHAZAR, C.H.; LEITE, L.H.R.; RODRIGUES, A.G.; COIMBRA, C.C. Performance-enhancing and thermoregulatory effects of intracerebroventricular dopamine in running rats. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, 93: 465–469, 2009.

BARROS, R.C.H.; BRANCO, L.G.S.; CÁRNIO, E.C. Evidence for thermoregulation by dopamine D1 and D2 receptors in the anteroventral preoptic region during normoxia and hypoxia. **Brain Research**, 1030: 165-171, 2004.

BEN-JONATHAN, N.; HNASKO, R. Dopamine as a prolactin (PRL) inhibitor. **Endocrine Reviews**, 22(6): 724 – 763, 2001.

BOULTON, A.A.; EISENHOFER, G. Catecholamine metabolism. From molecular understanding to clinical diagnosis and treatment: overview. **Advances in Pharmacology**, 42:273–292, 1998.

BRIDGE, M.W.; WELLER, A.S.; RAYSON, M.; JONES, D.A. Responses to exercise in the heat related to measures of hypothalamic serotonergic and dopaminergic function. **European Journal Applied Physiology**, 89, 451–459, 2003.

BROOKS, G.A.; WHITE, T.P. Determination of metabolic and heart rate responses of rats to treadmill exercise. **Journal Applied Physiology**, 45: 1009-1015, 1978.

BROWN, S.J.; GISOLFI, C.V.; MORA, F. Temperature regulation and dopaminergic systems in the brain: does the substantia nigra play a role? **Brain Research**, 234: 275- 286, 1982.

CHAOULOFF, F. Physical exercise and brain monamines: a review. **Acta Physiologica Scandinavica**, 137:1-13, 1989.

CHEN, X.M.; HOSONO, T.; YODA, T.; FUKUDA, Y.; KANOSUE, K. Efferent projection from the preoptic area for the control of non-shivering thermogenesis in rats. **The Journal of Physiology**, 512: 883–892, 1998.

CHEUNG, S.S.; SLEIVERT, G.G. Multiple triggers for hyperthermic fatigue and exhaustion. **Exercise and Sport Sciences Reviews**, 32: 100-106, 2004.

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

COIMBRA, C.C.; MIGLIORINI, R.H. Insulin-sensitive glucoreceptors in rat preoptic area that regulate FFA mobilization. **American Journal of Physiology**, 251: E703-E706, 1986.

COSENZA, R.M. **Fundamentos da neuroanatomia**. 3. ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. 147 p.

COX, B.; KERWIN, R.W.; LEE, T.F.; PYCOCK, C.J. A dopamine-5-hydroxytryptamine link in the hypothalamic pathways which mediate heat loss in the rat. **The Journal of Physiology**, 303: 9–21, 1980.

DAVIS, J.M.; BAILEY, S.P. Possible mechanisms of central nervous system fatigue during exercise. **Medicine Science in Sports Exercise**, 29(1): 45-57, 1997.

FEHLNER, K.S.; GORDON, C.J. Effect of ambient temperature on thermoregulation in rats following preoptic/anterior hypothalamic injection of physostigmine. **Neuropharmacology**, 24: 993-997, 1985.

FOLEY, T.E.; FLESHNER, M. Neuroplasticity of dopamine circuits after exercise: implications for central fatigue. **Neuromolecular medicine**, 10(2):67-80, 2008.

FOLEY, T.E.; GREENWOOD, B.N.; DAYB, H.E.W.; KOCH, L.G., BRITTON, S.L.; FLESHNER, M. Elevated central monoamine receptor mRNA in rats bred for high endurance capacity: Implications for central fatigue. **Behavioural Brain Research**, 174: 132–142, 2006.

FREED, C.R.; YAMOMOTO, B.K. Regional brain dopamine metabolism: A marker for the speed, direction, and posture of moving animal. **Science**, 229: 62-65, 1985.

FULLER, A.; CARTER, R.N.; MITCHELL, D. Brain and abdominal temperatures at fatigue in rats exercising in the heat. **Journal of Applied Physiology**, 877-883, 1998.

GALBO, H. The hormonal response to exercise: **Proceedings of the nutrition society**, 44: 257-266, 1985.

GANDEVIA, S.C. Some central and peripheral factors affecting human motoneuronal output in neuromuscular fatigue. **Sports Medicine**, 13(2): p.93-8, 1992.

GERALD, M.C. Effects of (+)-amphetamine on the treadmill endurance performance of rats. **Neuropharmacology**. 17:703-4, 1978.

GIBSON, H.; EDWARDS, R.H.T. Muscular exercise and fatigue. **Sports Medicine**, p. 120-132, 1985.

GISOLFI, C. V.; MORA, F.; BLOOMFIELD, S.; BEATTIE, M.; MAGNES, S. Effects of apomorphine and pimozide on temperature regulation during exercise in the rat. **Journal of Applied Physiology**, 49: 363-366, 1980a.

GISOLFI, C.V.; CHRISTMAN, J.V. Thermal effects of injecting norepinephrine into hypothalamus of the rat during rest and exercise. **Journal of Applied Physiology**, 49 937-941, 1980b.

GONZÁLEZ-ALONSO, J.; TELLER, C.; ANDERSEN, S.L.; JENSEN, F.B.; HYLDIG, T., NIELSEN, B. Influence of body temperature on the development of fatigue during prolonged exercise in the heat. **Journal of Applied Physiology**, 86: 1032-1039, 1999.

GOODMAN, L. S.; GILMAN, A. G. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 11. ed. Rio de Janeiro: McGraw - Hill, 2007. 1821p.

GORDON, C.J. **Temperature Regulation in Laboratory Rodents**. Cambridge, UK: Cambridge University Press, p. 8-11, 1993.

GREENSPAN, F.S.; GARDNER, D.G. **Basic and clinical endocrinology**. 7th edition, New York: McGraw-Hill, 2004.

GREENSTEIN, B.; GREENSTEIN, A. **Color Atlas of Neuroscience: Neuroanatomy and Neurophysiology**. NY, 2000. 449p.

HAGIWARA, Y.; OHI, M.; KUBO, T. Cholinergic stimulation in the posterior hypothalamic nucleus activates angiotensin II-sensitive neurons in the anterior hypothalamic area of rats. **Brain Research Bulletin**, 67: 203-209, 2005.

HALL, H.; KÖHLER, C.; GAWELL, L. Some in vitro receptor binding properties of

w3Hxeticlopride, a novel substituted benzamide, selective for dopamine-D2 receptors in the rat brain. **The European Journal of Pharmacology**, 111: 191–199, 1985.

HAMMEL, H.T., JACKSON D.C., STOLWIJK, J.A., HARDY, J.D., STROMME, S.B. Temperature regulation by hypothalamic proportional control with an adjustable set point. **Journal of Applied Physiology**, 18: 1146-1154, 1963.

HASEGAWA, H.; ISHIWATA, T.; SAITO, T.; YAZAWA, T.; AIHARA, Y.; MEEUSEN R. Inhibition of the preoptic area and anterior hypothalamus by tetrodotoxin alters thermoregulatory functions in exercising rats. **Journal of Applied Physiology**, 98:1458-1462, 2005a.

HASEGAWA, H.; MEEUSEN, R.; SARRE, S.; DILTOER, M.; PIACENTINI, M.F.; MICHOTTE, Y. Acute dopamine/norepinephrine reuptake inhibition increases brain and core temperature in rats. **Journal of Applied Physiology**, 99: 1397–1401, 2005b.

HASEGAWA, H.; PIACENTINI, M.F.; SARRE, S.; MICHOTTE, Y.; ISHIWATA, T.; MEEUSEN, R. Influence of brain catecholamines on the development of fatigue in exercising rats in the heat. **The Journal of Physiology**, 586(1): 141–149, 2008.

HASEGAWA, H.; YAZAWA, T.; YASUMATSU, M.; OTOKAWA, M.; AIHARA, Y. Alteration in dopamine metabolism in the thermoregulatory center of exercising rats. **Neuroscience Letters**, 289: 161–164, 2000.

IORIO, L.C.; BARNETT, A.; LEITZ, F.H.; HOUSER, V.P.; KORDUBA, C.A. SCH 23390, a potential benzazepine antipsychotic with unique interactions on dopaminergic systems. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, 226: 462–468, 1983.

ISHIWATA, T.; HASEGAWA, H.; YAZAWA, T.; OTOKAWA, M.; AIHARA, Y. Functional role of the preoptic area and anterior hypothalamus in thermoregulation in freely moving rats. **Neuroscience Letters**, 325: 167-170, 2002.

KALINSKI, M.I.; DLUZEN, D.E.; STADULIS, R. Methamphetamine produces subsequent reductions in running time to exhaustion in mice. **Brain Research**, 921: 160–4, 2001.

KATZUNG, B.G. **Basic e clinical pharmacology**. 8th edition, East Norwalk: Appleton e Lange, 2001.

KIYOHARA, T.; HORI, T.; SHIBATA, M.; NAKASHIMA, T.; OSAKA, T. Neuronal inputs to preoptic thermosensitive neurons-histological and electrophysiological mapping of central connections. **The Journal of Thermal Biology**, 9: 21-26, 1984.

KUZHUKANDATHIL, E.V.; OXFORD, G.S. Classic D₁ dopamine receptor antagonist R-(α)-7-Chloro-8-hydroxy-3-methyl-1-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1H-3-benzazepine hydrochloride (SCH 23390) directly inhibits G protein-coupled inwardly rectifying potassium channels. **Molecular Pharmacology**, 62(1): 119-126, 2002.

LACERDA, A.C.R. **Papel do óxido nítrico central na termorregulação durante o exercício físico em ratos**. 2006. 78 f. Tese de doutorado. Instituto de Ciências Biológicas. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2006.

LACERDA, A.C.R.; MARUBAYASHI, U.; BALTHAZAR, C.H.; COIMBRA, C.C. Nitric oxide pathway is an important modulator of heat loss in rats during exercise. **Brain Research Bulletin**, 67: 110–116, 2005.

LEITE, L.H.R.; LACERDA, A.C.R.; MARUBAYASHI, U.; COIMBRA, C.C. Central angiotensin AT1 receptor blockade affects thermoregulation and running performance in rats. **American Journal Physiology Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, 291: R603-607, 2006.

LIMA, N.R.V. **Efeitos da metilatonina nos núcleos ventromediais do hipotálamo sobre as alterações metabólicas e cardiovasculares e no tempo total de exercício em ratos não treinados**. Tese de doutorado. Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 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**, 40(4):526–532, 2001.

LISTE, L.; GUERRA, M.J.; CARUNCHO, H.J.; LABANDEIRA-GARCIA, J.L. Treadmill running induces striatal Fos expression via NMDA glutamate and dopamine receptors. **Experimental Brain Research**, 115: 458–469, 1997.

MANSOUR, A.; MEADOR-WOODRUFF, J.H.; BUNZOW, J.R.; CIVELLI, O.; AKIL, H.; WATSON, S.J. Localization of dopamine D₂ receptor mRNA and D₁ and D₂ receptor binding in the rat brain and pituitary: an in situ hybridization-receptor autoradiographic analysis. **The Journal of Neuroscience**, 10: 2587–2600, 1990.

MARINO, F.E. Anticipatory regulation and avoidance of catastrophe during exercise-

induced hyperthermia. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part B, 139: 561-569, 2004.

MCARDLE, W.D.; KATCH, F.I.; KATCH, V.L. **Fisiologia do Exercício – Energia, Nutrição e Desempenho Humano**. 5ª edição. Guanabara Koogan, 2001.

MELTZER, H.Y.; FLEMMING, R.; ROBERTSON, A. The effect of buspirone on prolactin and growth hormone secretion in man. **Archives of General Psychiatry**, 40: 1099–1102, 1983.

MEUSSEN, R.; PIANCENTINI, M.F.; MEIRLEIR, K. Brain microdialysis in exercise research. **Sports Medicine**, 31(14): 965-983, 2001.

NAGASHIMA, K.; NAKAI, S.; TANAKA, M.; KANOUSE, K. Neuronal circuitries involved in thermoregulation. **Autonomic Neuroscience**, 85: 18-25, 2000.

NEWSHOLME, E.A.; BLOMSTRAND, E. The plasma level of some aminoacids and physical and mental fatigue. **Experientia**, 52: 413-5, 1996.

NEWSHOLME, E.A.; BLOMSTRAND, E.; EKBLUM, B. Physical and mental fatigue: metabolic mechanisms and importance of plasma amino acids. **British Medical Bulletin**, 48: 477– 95, 1992.

NIELSEN, B.; HALES, J.R.S.; STRANGE, S.; CHRISTENSEN, N.J.; WARBERG, J.; SALTIN, B. Human circulatory and thermoregulatory adaptations with heat acclimation and exercise in a hot, dry environment. **The Journal Physiology**, 460: 467-475, 1993.

NYBO, L.; NIELSEN, B. Hyperthermia and central fatigue during prolonged exercise in humans. **Journal of Applied Physiology**, 91: 1055-1060, 2001.

O'CONNELL, D.P. Expression of newly cloned brain dopamine receptors in peripheral organs. **Biochemical Society Transactions**, 24: 169–172, 1996.

O'LEARY, D.S.; JOHNSON, J.M.; TAYLOR, W.F. Mode of neural control mediating rat tail vasodilation during heating. **Journal of Applied Physiology**, 59: 1533-1538, 1985.

OWENS, N.C.; OOTSUKA, Y.; KANOSUE, K.; MCALLEN, R.M. Thermoregulatory

control of sympathetic fibres supplying the rat's tail. **The Journal Physiology**, 543: 849-858, 2002.

PAXINOS, G.; WATSON, C. **The rat brain in stereotaxic coordinates**. Ademic Press, INC., San Diego, Califórnia, 1986.

PRÍMOLA-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. **Neuroscience Letter**, 413: 1-5, 2007.

RAMAN, E.R.; ROBERTS, M.F.; VANHUYSE, V.J. Body temperature control of rat tail blood flow. **American Journal of Physiology**, 245: R426-R4332, 1983.

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**, 36: 131-135, 2003.

RODRIGUES, L.O.C; SILAMI-GARCIA, E. **Fadiga: falha ou proteção**. Temas atuais III em Educação Física e Esportes. Editora Health, Belo Horizonte, 1998.

ROMANOVSKY, A.A. Thermoregulation: some concepts have changed.functional architecture of the thermoregulatory system. **American Journal Physiology Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, 292: R37–R46, 2007.

SANTOS, G.L.; LEITE, J.V.; COIMBRA, C.C. Metabolic adjustments during adaptation to high ambient temperature by preoptic-lesioned rats. . **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, 24(11): 1169-1172, 1991.

SHELLOCK, F.G.; RUBIN, S.A. Temperature regulation during treadmill exercise in the rat. **Journal of Applied Physiology: Respiratory, Environmental Exercise Physiology**, 57(6): 1872-1877, 1984.

SOARES, D.D.; COIMBRA, C.C.; MARUBAYASHI, U. Tryptophan-induced central fatigue in exercising rats is related to serotonin content in preoptic área. **Neuroscience Letters**, 415: 274–278, 2007.

SOARES, D.D.; LIMA, N.R.V.; COIMBRA, C.C.; MARUBAYASHI, U. Intracerebroventricular tryptophan increases heating and heat storage rate in exercising rats. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, 78: 255–261, 2004a.

SOARES, D.D.; LIMA, N.R.V.; MARUBAYASHI, U. Evidence that tryptophan reduces mechanical efficiency and running performance in rats. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**. 74: 357-362, 2003.

VALLONE, D.; PICETTI, R.; BORRELLI, E. Structure and function of dopamine receptors. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, 24: 125-132, 2000.

WALTERS, T.J.; RYAN, K.L.; TATE, L.M.; MASON, P.A. Exercise in the heat is limited by a critical internal temperature. **Journal of Applied Physiology**. 89: 799-806, 2000.

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**, 2007.

WATSON, P.; HASEGAWA, H.; ROELANDS, B.; PIACENTINI, M.F.; LOOVERIE R.; MEEUSEN, R. Acute dopamine/noradrenaline reuptake inhibition enhances human exercise performance in warm, but not temperate conditions. **The Journal of Physiology**, 565.3: 873–883, 2005.

YOUNG, A.A.; DAWSON, N.J. Evidence for on-off control of heat dissipation from the tail of the rat. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, 60(3): 392–398, 1982.

ZHANG, Y.H.; HOSONO, T.; YANASE-FUJIWARA, M.; CHEN, X.; KANOSUE, K. Effect of midbrain stimulations on thermoregulatory vasomotor responses in rats. **The Journal of Physiology**, 503(1): 177-186, 1997.

ZHANG, Y.H.; YANASE-FUJIWARA, M.; HOSONO, T.; KANOSUE, K. Warm and cold signals from the preoptic area: which contribute more to the control of shivering in rats? **The Journal of Physiology**, 485: 195–202, 1995.