

CLETIANA GONÇALVES DA FONSECA

EFEITO DO EXERCÍCIO FÍSICO AGUDO REALIZADO ATÉ A
INTERRUPÇÃO VOLUNTÁRIA DO ESFORÇO NA
TEMPERATURA AMBIENTE DE 12°C E 25°C SOBRE A
TEMPERATURA HIPOTALÂMICA

Belo Horizonte
2012

CLETIANA GONÇALVES DA FONSECA

Efeito do exercício físico agudo realizado até a interrupção voluntária do esforço na temperatura ambiente de 12°C e 25°C sobre a temperatura hipotalâmica

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

Orientador: Dr. Nilo Resende Viana Lima

Belo Horizonte
Universidade Federal de Minas Gerais
2012



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



Dissertação intitulada **“Efeito do exercício físico realizado até a interrupção voluntária do esforço na temperatura ambiente de 12°C sobre a temperatura hipotalâmica”**, de autoria da mestranda **Cletiana Gonçalves da Fonseca**, defendida em 21 de setembro de 2012, na Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional da Universidade Federal de Minas Gerais e submetida à banca examinadora composta pelos professores:

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

Prof. Dr. Thales Nicolau Prímola Gomes
Departamento de Educação Física
Universidade Federal de Viçosa

Prof. Dr. Cândido Celso Coimbra
Departamento de Esportes
Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional
Universidade Federal de Minas Gerais

Belo Horizonte, 21 de setembro de 2012.

AGRADECIMENTOS

À população brasileira que, por intermédio da Coordenação de Pessoal de Nível Superior (CAPES), do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e da Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) forneceram suporte financeiro à realização deste trabalho.

A todos os professores da graduação e da pós-graduação que contribuíram para a minha formação acadêmica. Concluir mais uma fase da minha vida acadêmica na UFMG me faz sentir muito feliz!

Ao Dr. Nilo Resende Viana Lima pela orientação, pelos ensinamentos, pela exigência e oportunidade de desenvolver este trabalho. Cada fase deste processo de aprendizado foi única e proporcionou um grande crescimento acadêmico e pessoal.

Ao Prof. Dr. Luiz Oswaldo Carneiro Rodrigues pelo prazer, entusiasmo e encantamento pela pesquisa. Obrigada pela imensa contribuição científica.

À Dra. Danusa Dias Soares pelo exemplo de professora e mulher guerreira. Agradeço pelo entusiasmo e vontade de querer sempre mais.

Ao Prof. Dr. Emerson Silami-Garcia pelo empenho na construção do Laboratório de Fisiologia do Exercício (LAFISE), pela contribuição científica e pela luta em favor da valorização dos profissionais de Educação Física.

Ao Dr. Luciano Sales Prado por ter sido o meu primeiro orientador e despertado em mim o interesse pela pesquisa. Obrigada pelo incentivo à iniciação científica.

Ao Prof. Dr. Cândido Celso Coimbra, pelo acesso à infra-estrutura do Laboratório de Endocrinologia e Metabolismo do ICB para a realização das análises fundamentais no desenvolvimento deste trabalho. Obrigado por ter aceitado participar desta banca.

Ao Dr. Samuel Penna Wanner pela paciência, cuidado e dedicação deste os procedimentos técnicos iniciais até a discussão dos resultados. Obrigada pelo incentivo, exemplo de humildade e sabedoria.

Aos colegas do mestrado e LAFISE, pela convivência agradável durante o curso, pois de alguma forma cada um contribuiu para a minha formação. Agradeço em especial a Patrícia Rocha pela disponibilidade, apoio, companhia e amizade.

Aos amigos e colaboradores diretos deste trabalho, Juliana Bohnen Guimarães, Milene Rodrigues Malheiros Lima, Samuel Penna Wanner e Washington Pires por sempre estarem dispostos a me ajudar durante a realização deste trabalho. Sem o auxílio de vocês este trabalho não seria realizado.

A minha amiga Priscila Verônica pela amizade e por entender a minha ausência.

Ao Gustavo Duarte Oliveira pela paciência, apoio, companheirismo, compreensão, carinho e pelo amor. Obrigada pelo incentivo e por fazer parte dos momentos mais importantes da minha vida. Amo você!

Aos meus pais Elias Gonçalves Anastácio e Zilma Fonseca Anastácio pelo amor e carinho, por não ter poupado esforços para me fazer uma pessoa cada vez melhor e por abdicarem dos seus sonhos para fazer dos meus realidade. Aos meus irmãos Rommenick Gonçalves da Fonseca, Bonniek Gonçalves da Fonseca e Carla Aparecida Gonçalves Sirqueira pelo amor e por compreenderem a minha ausência em alguns momentos. Obrigada por me ajudarem a superar os obstáculos do dia a dia. Amo vocês!

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

O estudo foi desenvolvido no Laboratório de Fisiologia do Exercício (LAFISE), da Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional (EEFFTO) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) e contou com a colaboração do Dr. Cândido Celso Coimbra (Laboratório de Endocrinologia e Metabolismo do Instituto de Ciências Biológicas – ICB/UFMG).

Os recursos financeiros necessários para a execução do trabalho foram concedidos pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela Coordenação de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e pela Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG).

RESUMO

Este estudo investigou o efeito do exercício físico sobre a temperatura no núcleo ventromedial do hipotálamo (VMH) durante a corrida em esteira, com velocidade constante, realizada até a interrupção voluntária do esforço (IVE), na temperatura ambiente de 12°C e determinou a velocidade máxima de corrida durante o exercício com aumentos progressivos da velocidade, nas temperaturas ambientes de 12°C e 25°C até a IVE. Para isso, foram utilizados ratos adultos da linhagem Wistar pesando entre 250 – 365 g. Os ratos foram submetidos ao implante da cânula guia no núcleo ventromedial do hipotálamo direito e do sensor de temperatura abdominal. Após a recuperação das cirurgias, os animais foram familiarizados a corrida na esteira (18 m•min⁻¹ e 5% de inclinação) durante cinco minutos, por 5 dias consecutivos. Em seguida, os animais do protocolo 1 foram submetidos às seguintes situações experimentais: exercício na velocidade de 20 m•min⁻¹ e 5% de inclinação da esteira, nas temperaturas ambientes de 12°C e 25°C; 60 minutos de repouso na esteira, na temperatura ambiente de 12°C e 60 minutos de repouso na própria gaiola, na temperatura ambiente de 25°C. Os animais do protocolo 2 foram submetidos ao exercício com aumentos progressivos da velocidade até IVE, nas temperaturas ambientes de 12°C e 25°C. Na temperatura ambiente de 25°C a temperatura no VMH aumentou durante o exercício físico realizado até a interrupção voluntária do esforço (37,68 ± 0,06°C min zero vs. 39,16 ± 0,09°C IVE; n = 7; p < 0,001). Entretanto, a temperatura no VMH permaneceu inalterada do início ao final do exercício realizado até a interrupção voluntária do esforço, na temperatura ambiente de 12°C (37,39 ± 0,28°C min zero vs. 37,71 ± 0,20°C IVE; n = 6; p = 0,63). Estes dados indicam que o calor dissipado durante o exercício físico realizado no ambiente termoneutro não foi suficiente para manter o equilíbrio térmico, resultando em aumento da temperatura no VMH. Entretanto, o calor perdido durante o exercício realizado no ambiente frio contrabalanceou o calor produzido pelo cérebro e pelos músculos durante o exercício, resultando na estabilidade da temperatura no VMH. Além disso, o desempenho físico durante o exercício com velocidade constante realizado na temperatura ambiente de 12°C foi 112% maior quando comparado ao exercício realizado no ambiente termoneutro (67,1 ± 13,7 min a 12°C vs. 31,5 ± 5,6 min a 25°C; n = 7; p = 0,04). Durante o exercício com aumentos progressivos da

velocidade realizada a 12°C, o desempenho foi 16% maior quando comparado ao exercício realizado no ambiente termoneutro ($31,2 \pm 0,7 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$ a 12°C vs. $26,4 \pm 1,7 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$ a 25°C; $n = 7$; $p = 0,01$). Estes resultados indicam que durante o exercício, no qual a temperatura hipotalâmica não altera do início ao final, a interrupção do esforço ocorre por outros fatores e não por aumento da temperatura hipotalâmica, resultando em maior desempenho.

Palavras Chave: Termorregulação, temperatura cerebral, frio e interrupção voluntária do esforço.

ABSTRACT

This study investigated the effect of physical exercise on the temperature in the ventromedial nucleus hypothalamus (VMH) during treadmill running with constant-speed exercise until voluntary interruption of the effort (VIE), at ambient temperature of 12°C and determine maximum speed of running during incremental-speed exercise at ambient temperatures of 12°C and 25°C until the voluntary interruption of the effort. For that purpose, adults Wistar rats were utilized. They weighted between 250 – 365 g. The rats were subjected to the implant of a guide cannula in the right ventromedial hypothalamic nucleus and of an abdominal temperature sensor. After recovery from surgery, the rats were familiarized with running (18 m•min⁻¹ and 5% inclination) during five consecutive days. Then the rats in protocol 1 were subjected to the following experimental trials: constant-speed exercise of 20 m•min⁻¹ and 5% inclination, at ambient temperatures of 12°C and 25°C, 60 minutes rest in the treadmill at ambient temperature 12°C and 60 minutes rest in the cage at ambient temperature of 25°C. The rats in protocol 2 were subjected to running with incremental-speed exercise until VIE, at ambient temperature of 12°C e 25°C. The temperature in the VMH increased during constant-speed exercise until interruption voluntary of the effort, at ambient temperature of 25°C (37.68 ± 0.06°C min zero vs. 39.16 ± 0.09°C VIE; n = 7; *p* < 0.001). However, the temperature in the VMH remained unchanged from start to finish of exercise performed until voluntary interruption of the effort, at ambient temperature of 12°C (37.39 ± 0.28°C min zero vs. 37.71 ± 0.20°C VIE; n = 6; *p* = 0.63). These data indicate that the heat dissipated during physical exercise at a thermoneutral environment was not sufficient to maintain the thermal balance, inducing to an increase of temperature in the VMH. Nevertheless, the heat dissipated during exercise in the cold environment counterbalanced the heat produced in the brain and in the muscles, resulting unchanged of the temperature in the VMH. Moreover, the physical performance during the constant-speed exercise realized at ambient temperature of 12°C was 112% higher as compared to exercise in a thermoneutral environment (67.1 ± 13.7 min 12°C vs. 31.5 ± 5.6 min 25°C; n = 7; *p* = 0.04). Also, during incremental-speed exercise, the physical performance was 16% higher as compared to exercise in thermoneutral environment (31.2 ± 0.7 m•min⁻¹ 12°C vs. 26.4 ± 1.7 m•min⁻¹ 25°C; n =

7; $p = 0.01$). These results indicate that hypothalamic temperature of the rats remained unchanged from start to finish of the physical exercise resulting in higher performance.

Keywords: Thermoregulation, brain temperature, cold and voluntary interruption of the effort.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | |
|---|----|
| FIGURA 1 – Vias neurais aferentes (porção esquerda da figura) e eferentes (porção direita) que controlam a termogênese do tecido adiposo marrom e vasoconstrição cutânea em resposta à estimulação dos neurônios sensíveis à temperatura da pele..... | 20 |
| FIGURA 2 – Protocolo 1 e Protocolo 2..... | 27 |
| FIGURA 3 – Representação esquemática dos procedimentos experimentais: Protocolo 1 e Protocolo 2..... | 30 |
| FIGURA 4 – Representação esquemática dos procedimentos experimentais: Repouso na esteira e na gaiola..... | 32 |
| FIGURA 5 – Fotomicrografias de secções coronais coradas com cresil violeta de dois animais nos quais o sensor de temperatura cerebral foi posicionado corretamente no VMH (painéis A e B) e de um rato no qual o sensor foi inserido em uma área lateral ao VMH, passando sobre o fórnice (painel C)..... | 38 |
| GRÁFICO 1 – Tempo total de exercício durante a corrida em esteira com velocidade constante, realizada até a interrupção voluntária do esforço, nas temperaturas ambientes de 25°C e 12°C..... | 40 |
| GRÁFICO 2 – Temperatura VMH (A), temperatura abdominal e desempenho (B) durante o exercício físico com velocidade constante realizado até a interrupção voluntária do esforço, nas temperaturas ambientes de 25°C e 12°C..... | 41 |
| GRÁFICO 3 – Taxa de elevação da temperatura no núcleo ventromedial do hipotálamo (VMH) durante o exercício físico com velocidade constante realizado até a interrupção voluntária do esforço, nas temperaturas ambientes de 25°C e 12°C..... | 42 |

GRÁFICO 4 – Correlação entre a taxa de elevação da temperatura no núcleo ventromedial do hipotálamo (VMH) e tempo total de exercício com velocidade constante realizado nos ambientes de 25°C e 12°C.....43

GRÁFICO 5 – Correlação entre a taxa de elevação da temperatura abdominal e tempo total de exercício com velocidade constante realizado no ambiente de 25°C e 12°C.....44

GRÁFICO 6 – Temperaturas no VMH e abdominal (A), variação das temperaturas no VMH e abdominal e desempenho (B) durante o exercício físico com velocidade constante realizado até a interrupção voluntária do esforço, na temperatura ambiente de 25°C..... 45

GRÁFICO 7 – Temperaturas no VMH, abdominal e desempenho durante o exercício físico com velocidade constante realizado até a interrupção voluntária do esforço, na temperatura ambiente de 12°C.....46

GRÁFICO 8 – Tempo total de exercício de animais que receberam o implante de cânula guia no VMH ou na área Peri - VMH durante a corrida em esteira com velocidade constante, nas temperaturas ambientes de 25°C e 12°C.....48

GRÁFICO 9 – Temperatura Peri-VMH (A), temperatura abdominal e desempenho (B) durante o exercício físico com velocidade constante realizado até a interrupção voluntária do esforço, nas temperaturas ambientes de 25°C e 12°C.....49

GRÁFICO 10 – Temperaturas no VMH (A), Peri-VMH (C) e abdominal (B e D) durante o período de 60 minutos de repouso na gaiola, na temperatura ambiente de 25°C, e durante 60 minutos de repouso na esteira, na temperatura ambiente de 12°C.....52

GRÁFICO 11 – Velocidade máxima alcançada durante o exercício físico, com aumentos progressivos da velocidade até a interrupção voluntária do esforço, nas temperaturas ambientes de 25°C e 12°C.....53

GRÁFICO 12 – Temperatura abdominal durante o exercício físico, com aumentos progressivos da velocidade até a interrupção voluntária do esforço, nas temperaturas ambientes de 25°C e 12°C.....54

LISTA DE TABELA

TABELA 1 - Protocolo de coloração dos tecidos cerebrais com cresil violeta.....36

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1 INTRODUÇÃO | 16 |
| 1.1 Revisão de Literatura | 16 |
| 1.2 Objetivo | 24 |
| 2 MATERIAIS E MÉTODOS | 25 |
| 2.1 Cuidados Éticos | 25 |
| 2.2 Animais | 25 |
| 2. Delineamento experimental | 26 |
| 2.4 Procedimentos cirúrgicos | 27 |
| 2.4.1 Implante da cânula guia cerebral e do sensor de temperatura abdominal..... | 28 |
| 2.5 Familiarização ao exercício físico na esteira | 29 |
| 2.6 Protocolos experimentais | 29 |
| 2.7 Experimentos de controle | 31 |
| 2.7.1 Repouso na esteira e na gaiola..... | 31 |
| 2.8 Variáveis medidas | 33 |
| 2.8.1 Variável calculada..... | 34 |
| 2.8.2 Variáveis de controle..... | 34 |
| 2.9 Eutanásia | 35 |
| 2.10 Verificação histológica | 36 |
| 2.11 Análise estatística | 37 |
| 3 RESULTADOS | 38 |
| 3.1 Localização da cânula guia cerebral | 38 |
| 3.2 Temperaturas hipotalâmica e abdominal e desempenho durante o exercício físico com velocidade constante e com aumentos progressivos da velocidade realizados nas temperaturas ambientes de 25°C e 12°C | 39 |
| 3.2.1 Animais em que o sensor de temperatura cerebral foi inserido no VMH..... | 39 |
| 3.2.2 Comparação das temperaturas hipotalâmica e abdominal durante o exercício físico realizado a 25°C e a 12°C..... | 44 |
| 3.2.3 Animais em que o sensor foi inserido em áreas hipotalâmicas próximas ao VMH..... | 47 |
| 3.3 Temperaturas hipotalâmica e abdominal durante o repouso nas | |

| | |
|---|----|
| temperaturas ambientes de 25°C e 12°C | 50 |
| 3.4 Temperatura abdominal e desempenho durante o exercício físico com aumentos progressivos da velocidade realizados nas temperaturas ambientes de 25°C e 12°C..... | 53 |
| 4 DISCUSSÃO..... | 55 |
| 5 CONCLUSÃO..... | 65 |
| REFERÊNCIAS..... | 66 |
| ANEXO 1 - CETEA..... | 72 |

1 INTRODUÇÃO

1.1 Revisão de Literatura

Os mamíferos mantêm a temperatura interna em uma faixa estreita sob uma ampla variação da temperatura ambiente (KIYATKIN, 2007). Em ambiente termoneuro, a temperatura interna é mantida relativamente constante por meio de ajustes na produção e dissipação de calor. Sugere-se que em mamíferos os mecanismos de controle da temperatura cerebral são independentes dos mecanismos de controle da temperatura interna, medida em outras partes do corpo (CAPUTA *et al.*, 1986; 1991; Kiyatkin, 2007). Evolutivamente, em humanos o tamanho do cérebro aumentou e conseqüentemente o metabolismo e a produção de calor. Portanto, possivelmente foi necessário o desenvolvimento de mecanismos para proteger o cérebro. Uma vez que o tecido cerebral é mais sensível a danos térmicos quando comparado a outros tecidos corporais (McConaghy *et al.*, 1995). No entanto, os mecanismos envolvidos no controle da temperatura cerebral não estão totalmente descritos. Por questões éticas e metodológicas, a regulação da temperatura cerebral em humanos permanece parcialmente desconhecida (Kiyatkin, 2007). Os estudos que investigaram as vias neurais envolvidas no controle da temperatura corporal utilizaram predominantemente, ratos como modelo experimental (Nagashima *et al.*, 2000; Romanovsky, 2007).

O tecido cerebral representa aproximadamente 2% da massa corporal total e é sensível às variações da temperatura corporal (Kiyatkin; Sharma, 2011). O cérebro consome cerca de 20% do oxigênio total do organismo durante o repouso e parte da energia utilizada no metabolismo cerebral é dissipada na forma de calor. A temperatura do cérebro é mantida em aproximadamente 37°C por meio do balanço entre a produção e a dissipação de calor. A manutenção do equilíbrio térmico cerebral depende do metabolismo do tecido e da sua capacidade de remover calor, via fluxo sanguíneo. Além disso, a temperatura cerebral é influenciada pelo metabolismo total do organismo e pela eficiência na perda de calor para o ambiente externo (Kiyatkin, 2007).

O metabolismo é a principal via de produção de calor no cérebro e a modulação do fluxo sanguíneo é a principal via de dissipação do calor produzido. De fato, o sangue venoso é mais quente quando comparado ao arterial e a diminuição do fluxo sanguíneo cerebral pode aumentar a temperatura do cérebro (KIYATKIN; WISE, 2002; NYBO *et al.*, 2002).

A energia utilizada pelas células neurais é para a manutenção dos processos moleculares e sinalização entre células (LAUGHLIN *et al.*, 1998). Esse gasto energético se deve à necessidade constante de fornecimento de nutrientes pelo sangue, manutenção dos potenciais de membrana celular, síntese de neurotransmissores, colisão de moléculas, difusão, liberação de vesículas e ativação de vias de sinalização (LAUGHLIN *et al.*, 1998; PAULSON, 2002). O gasto energético pode ter influenciado a estrutura, função e evolução dos sistemas de sinalização celular, neurônios, circuitos neuronais e codificação neural. A taxa de transmissão de informações entre neurônios pode ser representada em bits por segundo. O gasto para transmitir um bit em uma sinapse química é de 10^4 moléculas de ATPs, enquanto a sinalização elétrica é de 10^6 a 10^7 moléculas de ATPs. O sistema de sinalização celular ocorre por meio de proteínas moleculares que codificam informações através de mudanças em sua conformação. As sinapses químicas utilizam a energia disponível para realização deste processo neural (LAUGHLIN *et al.*, 1998) e a maior parte da energia é dissipada em forma de calor.

É bem estabelecido que em resposta à ativação cerebral ocorram alterações hemodinâmicas e metabólicas (PAULSON, 2002). O fluxo sanguíneo cerebral é ajustado de acordo com a demanda tecidual e está sob o controle de dois mecanismos principais, a autorregulação e a regulação metabólica. A autorregulação é considerada um mecanismo protetor que mantém o fluxo sanguíneo constante, mesmo frente a variações amplas da pressão de perfusão. Além disso, possibilita a manutenção ou o aumento da diferença artério-venosa de glicose e oxigênio em situações nas quais o fluxo sanguíneo está reduzido. Em função da regulação metabólica e da autorregulação, durante o exercício físico em ambiente termoneutro, no qual a temperatura cerebral aumenta nos minutos iniciais e permanece relativamente constante ($\sim 38^\circ\text{C}$), o fluxo sanguíneo cerebral aumenta e assim permanece constante. Entretanto, se a temperatura cerebral alcança valores

elevados ($\sim 39,5^{\circ}\text{C}$), o fluxo sanguíneo diminui, e pode aumentar ou não alterar a diferença artério-venosa de glicose e oxigênio (NYBO *et al.*, 2002a). Além disso, o mecanismo de regulação metabólica regula o fluxo sanguíneo de acordo com o metabolismo cerebral. Durante a transição entre o repouso e o exercício, há aumento da atividade elétrica do cérebro e aumento do seu metabolismo acompanhado por aumento do fluxo sanguíneo cerebral para suprir a demanda metabólica (NIELSEN *et al.*, 2001). Como a atividade locomotora é resultante da ativação de vias cerebrais, a qual pode ser alterada pelo aumento da temperatura cerebral e alterações no fluxo sanguíneo cerebral, é sugestivo que o desempenho físico possa ser limitado pelas alterações hemodinâmicas e termorregulatórias que ocorrem no cérebro.

Os valores basais da temperatura cerebral estão mais próximos do limite superior, no qual a morte é determinada pela desnaturação das proteínas regulatórias do que do limite inferior, no qual a morte é causada por parada cardíaca. Esta assimetria térmica indica que a elevação da temperatura cerebral é mais danosa que o seu resfriamento para a sobrevivência (ROMANOVSKY, 2007). As respostas termorregulatórias são desencadeadas pela ativação e/ou inibição de termossensores centrais e periféricos em função da necessidade do organismo conservar, produzir e dissipar o calor (NAGASHIMA *et al.*, 2000; ROMANOVSKY, 2007). O aumento da temperatura cerebral estimula os termossensores hipotalâmicos centrais, sendo a maior parte sensível ao calor, devido à necessidade de proteger o cérebro de danos térmicos. Há também neurônios termossensoriais periféricos, principalmente sensíveis ao frio localizados na mucosa oral e abaixo da epiderme, que detectam a temperatura da pele. O modelo atual que explica a organização funcional do sistema termorregulatório sugere que o sistema funcione como um agrupamento de alças efetoras relativamente independentes. Este modelo contrapõe a ideia de um único integrador central atuando em função de um ponto de referência (*Set-point* termorregulatório; ROMANOVSKY, 2009).

Em resposta à elevação da temperatura cerebral, os ratos aumentam a dissipação do calor por meio de mecanismos comportamentais como a extensão corporal para aumentar a área de troca de calor com o ambiente (MÄKINEN *et al.*, 1996) e o espalhamento de saliva sobre a superfície do corpo, uma vez que a saliva retira

calor ao evaporar (GORDON, 1990). Além das respostas comportamentais, os mecanismos autonômicos como as alterações do tônus vasomotor cutâneo contribuem para a perda de calor (GORDON, 1990). O aumento da ventilação pulmonar induzida pelo exercício também dissipa calor pela evaporação da água presente nas vias aéreas. Por outro lado, a exposição ao ambiente frio pode estimular os receptores sensoriais localizados na pele e ativar a via aferente somatossensorial que codifica as sinalizações da temperatura da pele para o hipotálamo, que, por sua vez, ativam respostas de defesa contra o frio (NAKAMURA; MORRISON, 2008b). Quando é necessário evitar a diminuição da temperatura cerebral, por exemplo, durante a exposição ao ambiente frio, os ratos utilizam estratégias comportamentais como diminuição da área de superfície corporal, mantendo-se em formato de “bola” para diminuir a perda de calor (MÄKINEN *et al.*, 1996). A vasoconstrição dos vasos superficiais diminui o fluxo sanguíneo para a periferia e reduz a transferência de calor por meio da convecção entre o centro do corpo e as extremidades, aumentando a capacidade insulativa do organismo (YOUNG; CASTELLANI, 2001).

As vias aferentes e eferentes que controlam o tônus vasomotor cutâneo, o tremor involuntário e a termogênese induzida pelo tecido adiposo marrom estão bem descritas na literatura. Como mostrado na FIG. 1, os primeiros neurônios aferentes de todas as vias termofetores são os neurônios sensoriais com seus corpos celulares localizados no gânglio da raiz dorsal. (DRG). As fibras dos neurônios DRG conduzem seus axônios para neurônios aferentes secundários

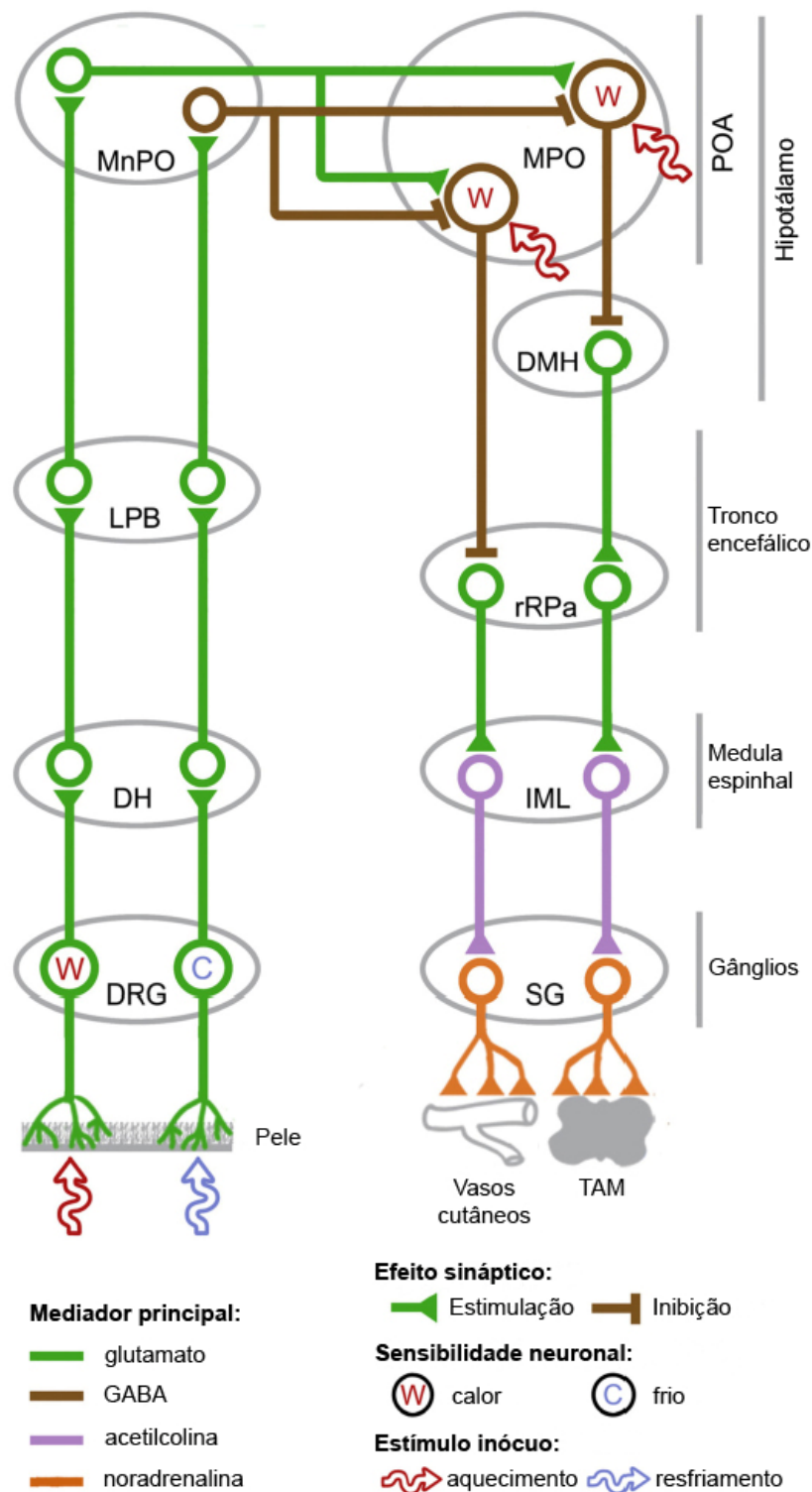


FIGURA 1 - Vias neurais aferentes (porção esquerda da figura) e eferentes (porção direita) que controlam a termogênese do tecido adiposo marrom e vasoconstrição cutânea em resposta à estimulação dos neurônios sensíveis à temperatura da pele. *Legendas:* DH, corno dorsal; DMH, núcleo dorsomedial do hipotálamo; DRG, gânglio da raiz dorsal; IML, coluna intermédio-lateral; LPB, núcleo parabraquial lateral; MnPO, núcleo pré-óptico mediano; MPO, área pré-óptica medial; POA, área pré-óptica do hipotálamo; rRPa, porção rostral do núcleo pálido da rafe; SG, gânglio simpático. Romanovsky *et al.*, 2009; p. 232.

na lâmina I do corno dorsal (DH), que por sua vez projetam-se para os núcleos parabraquiais (LPB). Nos núcleos LPB, a maior parte dos neurônios ativados pelo resfriamento da pele está localizada na parte lateral externa e na sua parte central. Estes enviam projeções excitatórias para o núcleo pré-óptico mediano (MnPO) localizado na área pré-óptica do hipotálamo (POA). Quando ocorre diminuição da temperatura cutânea, os neurônios sensíveis ao frio são estimulados e projeções inibitórias são ativadas do MnPO para o núcleo pré-óptico medial (MPO) induzindo a vasoconstrição dos vasos cutâneos e a ativação da produção de calor via tecido adiposo marrom. Por outro lado, quando ocorre aumento da temperatura da pele, as projeções do MnPO para o MPO são excitatórias e causam vasodilatação dos vasos cutâneos e mantêm a inibição tônica da resposta termogênica do tecido adiposo marrom. A área pré-óptica do hipotálamo, especificamente MPO possui conexões diretas com o mesencéfalo (porção rostral do núcleo pálido da rafe - rRPA). As projeções da rRPA descendem pela medula espinhal, via coluna intermédio-lateral até as fibras simpáticas pré-ganglionares que controlam o tônus vasomotor e atividade do tecido adiposo marrom. Embora as vias neurais que controlam os efetores autonômicos possam também estar envolvidas no controle de algumas respostas comportamentais, as vias neurais que regulam o comportamento termorregulatório ainda não foram muito estudadas.

Outra observação importante é que a maioria dos estudos sobre vias neurais foram realizados em animais expostos ao frio ou ao calor; poucos estudos investigaram essas vias em animais submetidos ao exercício físico, situação na qual os ajustes fisiológicos são dependentes de uma estimulação eferente a partir de áreas corticais associadas ao controle do movimento (comando central) e de informações aferentes enviadas ao sistema nervoso central por receptores localizados na musculatura, nos vasos, em órgãos e no próprio cérebro. Estudos prévios do nosso laboratório mostraram que os núcleos ventromediais do hipotálamo (VMH) estão envolvidos no controle da termorregulação durante o exercício (WANNER *et al.*, 2007; 2011). Os VMH modulam os mecanismos de dissipação e produção de calor, pois o bloqueio dos receptores colinérgicos muscarínicos presentes nestes núcleos induziu maior aumento do consumo de oxigênio e atraso no aumento da temperatura da pele da cauda durante o exercício físico. Foi sugerido que a menor dissipação de calor no início do exercício possa ter contribuído para a redução de 37% no desempenho dos

animais submetidos ao bloqueio dos receptores muscarínicos nos VMH, uma vez que o calor acumulado até a vasodilatação cutânea correlacionou-se negativamente com o tempo total de exercício (WANNER *et al.*, 2007). Tendo em vista esses achados mostrando que o VMH participa dos ajustes termorregulatórios durante o exercício físico (WANNER *et al.*, 2007; 2011) e considerando que essa área cerebral também modula os ajustes cardiovasculares (WANNER *et al.*, 2010), metabólicos e hormonais (VISSING *et al.*, 1989; MONDA *et al.*, 2005) e o desempenho físico (GUIMARÃES *et al.*, 2011) em animais submetidos ao exercício, decidimos medir a temperatura hipotalâmica diretamente no VMH.

Caputa *et al.* (1986) estabeleceram um limite superior de segurança para a temperatura hipotalâmica de aproximadamente 42°C, na qual o exercício é interrompido para evitar danos térmicos. Alguns estudos mais recentes têm sugerido que o sistema nervoso central é mais sensível a danos térmicos que outras partes do corpo (McCONAGHY *et al.*, 2005) e que aumentos da temperatura do cérebro são determinantes na interrupção voluntária do esforço (IVE) por diminuir o *drive* central para a manutenção do exercício físico prolongado (NYBO; NIELSEN, 2001). O mecanismo preciso pelo qual o aumento da temperatura cerebral limita o desempenho físico ainda não está claro: alguns investigadores defendem existência de uma temperatura interna crítica (FULLER *et al.*, 1998; WALTERS *et al.*, 2000), enquanto outros defendem que uma taxa de acúmulo de calor elevada limite a capacidade de realizar exercício (RODRIGUES *et al.*, 2003; TUCKER *et al.*, 2006). Fuller *et al.* (1998) verificaram que independente dos valores iniciais, os animais interromperam o esforço com a temperatura hipotalâmica próxima a 40°C. Entretanto, Rodrigues *et al.* (2003) demonstraram que os ratos interromperam o exercício com valores menores a 40°C e que a taxa de acúmulo de calor correlacionou-se negativamente com o tempo total de exercício. Portanto, possivelmente tanto o alcance de valores de temperatura corporal elevada quanto uma maior taxa de acúmulo de calor podem limitar o desempenho, uma vez que outros fatores como, a intensidade e duração do exercício e temperatura ambiente influenciam os mecanismos envolvidos na interrupção do esforço.

A partir dos estudos mostrando que o desempenho físico está associado às alterações da temperatura cerebral, Cheung e Sleivert (2004) propuseram que a elevação da temperatura cerebral pode induzir diretamente a interrupção voluntária do esforço (IVE). Neste modelo, o aumento da temperatura cerebral modifica a atividade, diminuindo o estado de alerta e aumentando a percepção do esforço, o que leva à interrupção voluntária do exercício. Entretanto, nenhum estudo verificou o efeito da manutenção da temperatura cerebral em valores constantes do início até o final do exercício sobre o desempenho físico. Logo, estratégias metodológicas que impedem a elevação da temperatura cerebral contribuem para o maior entendimento acerca das respostas fisiológicas que limitam o desempenho físico.

Guimarães *et al.* (2011) realizaram experimentos com o objetivo de encontrar uma temperatura ambiente na qual a temperatura abdominal permanecesse inalterada durante todo o período de exercício. A temperatura abdominal permaneceu inalterada ao longo do exercício quando este foi realizado na temperatura ambiente de 12°C. Entretanto, ainda não foi investigada a resposta da temperatura cerebral nessas condições, nas quais a temperatura abdominal se mantém constante durante o exercício físico realizado até a IVE.

Durante o exercício físico dinâmico há uma redistribuição do débito cardíaco a partir de leitos vasculares, tais como o esplânico e o renal, para os músculos ativos, o cérebro e a pele (ROWELL, 1974; MIKI *et al.*, 2001). A temperatura abdominal está sob a influência do fluxo sanguíneo esplânico e este pode ser reduzido em relação ao percentual do débito cardíaco (HO *et al.*, 1997), principalmente no início do exercício, para que haja o suprimento sanguíneo adequado nos músculos ativos e cérebro. Por outro lado, a temperatura cerebral é influenciada pelo fluxo sanguíneo cerebral e pelo seu metabolismo, os quais estão aumentados durante a transição do repouso para o exercício. Sabe-se que, a temperatura cerebral aumenta mais rápido quando comparado à temperatura abdominal (KIYATKIN, 2002; 2007). Portanto, é possível que exista uma diferença na temperatura ambiente, na qual a temperatura cerebral se mantenha constante ao longo do exercício até a IVE. O estabelecimento do *clamp* térmico cerebral é um método interessante para separar as respostas fisiológicas desencadeadas pelo aumento da temperatura cerebral induzido pelo exercício daquelas respostas desencadeadas diretamente pelo exercício. Portanto,

este protocolo experimental permite estudar outros fatores, além do aumento da temperatura cerebral, envolvidos na interrupção voluntária de esforço.

1.2 Objetivo

Verificar o efeito do exercício físico sobre a temperatura no hipotálamo ventral, em especial no núcleo ventromedial do hipotálamo (VMH) durante a corrida em esteira, com velocidade constante, realizada até a interrupção voluntária do esforço, na temperatura ambiente de 12°C.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Cuidados Éticos

Os procedimentos realizados neste estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CETEA) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), protocolo: 278/10 (ANEXO 1).

2.2 Animais

Foram utilizados 51 ratos adultos da linhagem Wistar, com massa corporal entre 250 - 365 g provenientes do Centro de Bioterismo (CEBIO) do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG.

Os ratos foram mantidos em gaiolas individuais forradas com maravalha e tiveram acesso livre à ração granulada (Nuvilab) e água. As gaiolas foram alojadas no Laboratório de Fisiologia do Exercício (LAFISE) da Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional (EEFFTO) da UFMG em uma sala com temperatura ambiente mantida em $24,5 \pm 1,1^{\circ}\text{C}$ e sob um ciclo claro - escuro de 14/10 h, sendo as luzes acessas às 5 h.

Dos 51 animais, 28 (54,9%) foram utilizados nas análises apresentadas na seção de resultados. As principais causas de perda de animais foram:

- animais doentes;
- fatores externos: ruídos e iluminação, na câmara ambiental e no biotério;
- problemas técnicos na coleta de dados.

2.3 Delineamento experimental

Dois grupos de animais foram utilizados neste estudo. Os experimentos com o primeiro grupo tiveram como objetivo verificar o efeito do exercício físico sobre as temperaturas no VMH e abdominal durante a corrida em esteira, com velocidade constante, realizada nas temperaturas ambientes de 12°C e 25°C. Os ratos foram inicialmente submetidos ao implante de cânula guia no VMH e de sensor de temperatura na cavidade abdominal. Após a recuperação, os animais foram familiarizados ao exercício em esteira rolante. Nos dias subsequentes, os ratos foram submetidos às quatro situações experimentais com intervalo de 48 h entre estas; a ordem das situações foi balanceada e aleatorizada. Depois da última sessão experimental, os animais foram eutanasiados e os cérebros foram removidos para análise do posicionamento do sensor de temperatura cerebral (FIG. 2A).

Um segundo grupo de animais foi utilizado com o objetivo de determinar a velocidade máxima de corrida durante o exercício realizado nos ambientes de 25°C e 12°C e calcular a intensidade relativa referente ao exercício realizado com velocidade constante de $20 \text{ m} \cdot \text{min}^{-1}$. Para alcançar tal objetivo foi realizada a cirurgia de implante do sensor de temperatura na cavidade abdominal e, após a recuperação, os ratos foram submetidos ao exercício com aumentos progressivos da velocidade até a interrupção voluntária do esforço (IVE) (FIG. 2B).

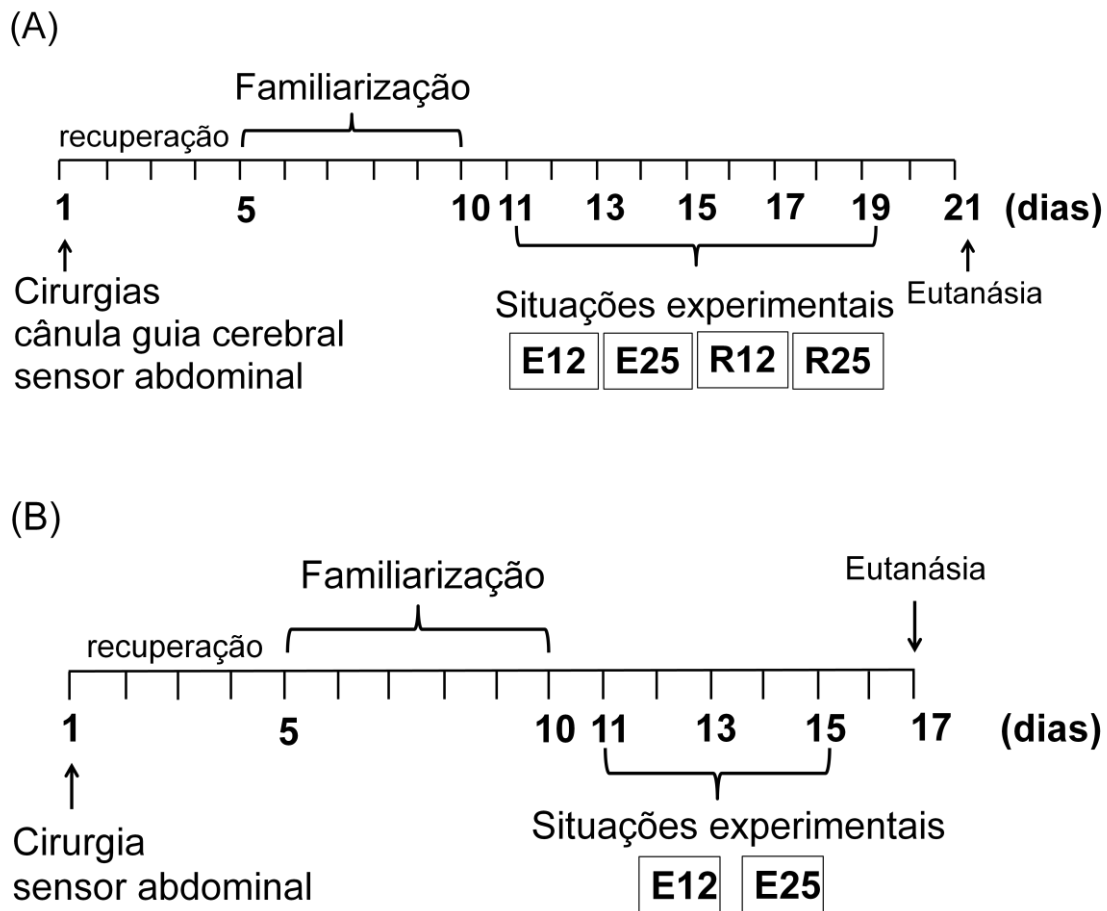


FIGURA 2 - Protocolo 1 (A) e Protocolo 2 (B). *Legenda:* Cirurgias: implante da cânula guia cerebral no núcleo ventromedial do hipotálamo direito e do sensor de temperatura abdominal; Protocolo 1: E12 e E25: exercício físico com velocidade constante realizado até a interrupção voluntária do esforço, nas temperaturas ambientes de 12C e 25C, respectivamente; R12: repouso na esteira a 12C; R25: repouso na gaiola a 25C. Protocolo 2: E12 e E25: exercício físico com aumentos progressivos da velocidade até a interrupção voluntária do esforço, nas temperaturas ambientes de 12C e 25C, respectivamente.

2.4 Procedimentos cirúrgicos

Os animais foram anestesiados com uma mistura de Ketamina (90 mg/kg de massa corporal, via intraperitoneal (i.p)) e Xilazina (10,5 mg/kg, i.p). Imediatamente antes da cirurgia, os animais receberam 0,2 mL de antibiótico (48000 UI – Pentabiótico Veterinário Pequeno Porte, via intramuscular), sendo 0,1 mL em cada pata traseira e 0,1 mL de analgésico (Banamine, 1,1 mg/kg, via subcutânea) em uma das patas traseiras. Os animais foram considerados recuperados dos procedimentos cirúrgicos quando estes alcançaram a massa corporal pr-operatória.

2.4.1 Implante da cânula guia cerebral e do sensor de temperatura abdominal

Para possibilitar a inserção do sensor de temperatura cerebral nos dias dos experimentos, uma cânula guia foi implantada no VMH direito. Para isso, a porção superior da cabeça do animal foi depilada e, após a assepsia, incisões longitudinais foram realizadas na pele e no tecido subcutâneo. Em seguida, foi realizada a remoção do periósteo para expor o bregma, referência anatômica para as coordenadas estereotáxicas, com o auxílio de uma solução de cloridrato de lidocaína 2% e de adrenalina 1:200000. O animal foi então posicionado no estereotáxico para animais de pequeno porte (Insight Equipamentos, modelo ETX3/99, SP, Brasil) de forma que as referências anatômicas, bregma e lambda, permanecessem na mesma altura. A craniotomia foi realizada utilizando-se uma broca odontológica e a cânula guia (0,8 mm de diâmetro interno, 20 mm de comprimento e 21 gauge) foi implantada nas seguintes coordenadas: - 2,5 mm posterior ao bregma, - 0,6 mm a partir da linha mediana e - 8,5 mm de profundidade a partir da dura mater (PAXINOS e WATSON, 2007). A cânula foi apoiada com o auxílio de dois parafusos de relojoeiro e fixada ao crânio com cimento odontológico autopolimerizável (Dental Vip, SP, Brasil). A cânula teve o orifício interno protegido por um mandril de aço inoxidável (0,1 mm de diâmetro externo) para evitar a obstrução da sua luz. Terminado o implante da cânula guia, os ratos foram imediatamente submetidos ao implante de sensor de temperatura na cavidade abdominal.

Após a depilação e assepsia da pele sobre a região abdominal, foram realizadas duas incisões longitudinais com aproximadamente 2 cm, uma na pele e a outra no reto abdominal, na direção da linha alba, possibilitando o implante do sensor de temperatura na cavidade abdominal. Em seguida, o sensor foi inserido e suturado ao músculo reto abdominal para evitar o seu deslocamento dentro da cavidade abdominal. O músculo reto abdominal e a pele foram então suturados em camadas.

2.5 Familiarização ao exercício físico na esteira

Após alcançarem a massa corporal pré-cirúrgica, os animais foram familiarizados a correr em uma esteira rolante para pequenos animais (Treadmill Simplex II, Columbus Instruments, OH, EUA) a uma velocidade constante de $18 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$ e 5% de inclinação da esteira (GUIMARÃES *et al.*, 2011). O protocolo de familiarização foi realizado durante cinco dias consecutivos durante 10 minutos por dia. Nos primeiros cinco minutos, os animais puderam se mover livremente na esteira e, em seguida, o animal foi submetido a cinco minutos de corrida. Durante o protocolo de familiarização, a temperatura ambiente foi controlada em 25°C e umidade relativa do ar (URA) em 50%, por meio da câmara ambiental (Russels Technical Products, WMD 1150-5, Holland, MI, EUA) (GUIMARÃES *et al.*, 2011).

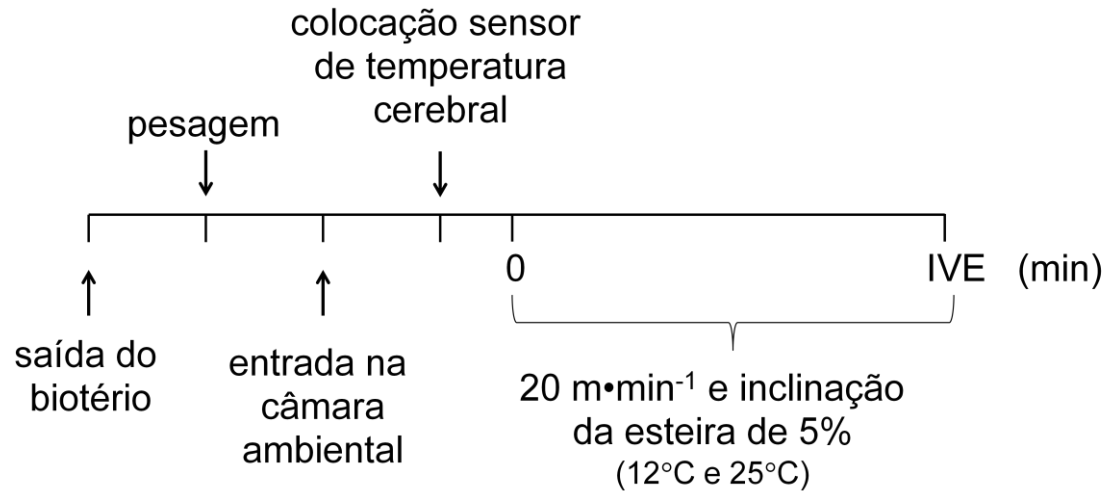
O protocolo de familiarização ao exercício físico foi realizado para ensinar aos animais em que direção correr e para reduzir o estresse causado pelo ambiente, no qual os experimentos foram realizados (LIMA *et al.*, 2001; PRÍMOLA-GOMES *et al.*, 2007).

2.6 Protocolos experimentais

Nos dias dos experimentos, os animais correram a uma velocidade constante de $20 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$ e inclinação da esteira de 5% até a IVE, nas temperaturas ambientes de 12°C e 25°C (Protocolo 1 – FIG. 3A) (GUIMARÃES *et al.*, 2011). No segundo protocolo foi realizado um exercício físico com aumentos progressivos da velocidade. Nos dois primeiros minutos, a velocidade foi mantida em $10 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$ e esta foi aumentada em $1 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$, a cada 2 minutos, até a IVE (Protocolo 2 – FIG. 3B).

(A) Protocolo 1

Exercício com velocidade constante:



(B) Protocolo 2

Exercício com aumentos progressivos da velocidade:

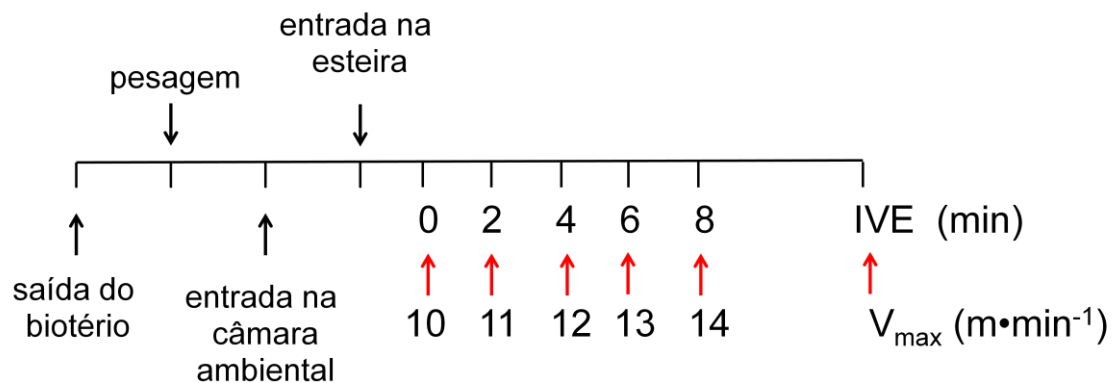


FIGURA 3 - Representação esquemática dos procedimentos experimentais. Protocolo 1: (A) Grupo submetido ao exercício com velocidade constante: exercício físico realizado na velocidade de $20 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$ e inclinação da esteira de 5% até a IVE, nas temperaturas ambientes de 25°C e 12°C . Protocolo 2: (B) Grupo submetido ao exercício com aumentos progressivos da velocidade: velocidade inicial de $10 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$ e acréscimos de $1 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$ a cada 2 min, até a IVE, nas temperaturas ambientes de 25°C e 12°C . *Legenda:* V_{max} , velocidade máxima.

A interrupção voluntária do esforço foi definida como o momento no qual o animal não conseguiu manter a intensidade do exercício físico na esteira rolante,

submetendo-se a um estímulo elétrico por 10 segundos (PIRES *et al.*, 2010). A esteira utilizada nos experimentos possui uma grade de estímulo elétrico em sua parte posterior. A intensidade deste foi mantida em 0,5 mA e a frequência em 5 Hz, de modo que o intervalo entre os estímulos permitisse ao animal voltar para esteira.

2.7 Experimentos de controle

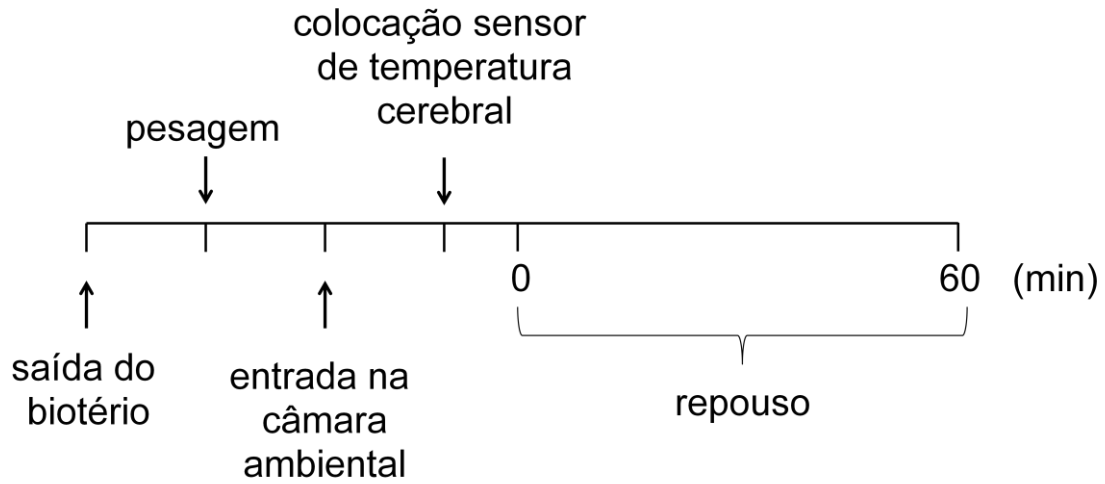
2.7.1 Repouso na esteira e na gaiola

Para verificar se o *clamp* térmico encontrado foi específico ao exercício físico, foram realizados experimentos em repouso. Nestes experimentos, foi permitido que os animais movessem livremente na esteira durante 60 min, na temperatura ambiente de 12°C (FIG. 4A).

Em uma segunda situação, também foi permitido que os ratos movessem livremente na própria gaiola na temperatura ambiente de 25°C. Após a estabilização dos valores, as temperaturas hipotalâmica e abdominal foram registradas durante 60 min (FIG. 4B). As colheitas dos dados ocorreram entre às 13 e 18 h.

(A)

Repouso na esteira: 12°C



(B)

Repouso na gaiola: 25°C

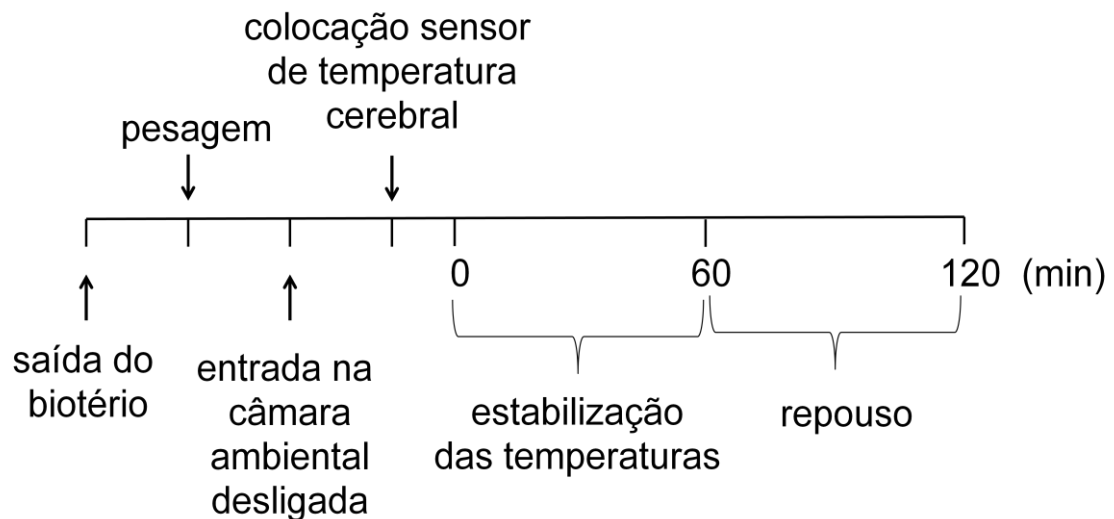


FIGURA 4 - Representação esquemática dos procedimentos experimentais. (A) Repouso na esteira a 12°C: 60 min de repouso, na temperatura ambiente de 12°C. (B) Repouso na gaiola a 25°C: 60 min de estabilização das temperaturas hipotalâmica e abdominal seguido de 60 min de repouso na própria gaiola a 25°C.

2.8 Variáveis medidas

- Temperatura do hipotálamo ventral (°C): A temperatura hipotalâmica foi medida por meio de um termorresistor (Micro Beta ship, Beta Thermo Corporation MA, EUA) que foi inserido no hipotálamo, por meio da cânula guia cerebral, antes de cada experimento. O termorresistor passou 0,2 mm abaixo da ponta da cânula guia. Esse termorresistor foi acoplado a um multímetro (Multímetro digital True – RMS Fluke 289 FVF) e os valores de resistência registrados foram convertidos, posteriormente, em valores de temperatura em °C, utilizando-se uma regressão linear.
- Temperatura abdominal (°C): A temperatura abdominal dos ratos foi registrada por um sensor de temperatura (Mini Mitter Company Inc., G2E – Mitter 870-0010-0, 15,5 mm x 6,5 mm, 1,1 mg, OR, EUA). As ondas de rádio emitidas pelo sensor foram captadas a cada 5 segundos por meio de uma placa receptora (modelo ER-4000 energizer/receiver, Respironics INC. Company, Mini Mitter) posicionada ao lado da esteira. A frequência das ondas de rádio foi convertida em valores de temperatura e os dados armazenados em um software (Vital View, Mini-Mitter).
- Tempo total de exercício físico (min): O tempo total de exercício (TTE), em min, foi utilizado como índice de desempenho e correspondeu ao intervalo de tempo entre o início do exercício e o momento em que os ratos interromperam o exercício físico. Esse tempo foi medido por um cronômetro com precisão de 0,01 s.
- Velocidade máxima de corrida (m•min⁻¹): A velocidade máxima de corrida foi determinada usando a seguinte equação: $V_{\max} \text{ (m}\cdot\text{min}^{-1}) = V_{\text{final}} \text{ (m}\cdot\text{min}^{-1}) + (t \text{ (min)}/150 \cdot \Delta V \text{ (m}\cdot\text{min}^{-1}))$, onde V_{\max} é a velocidade máxima alcançada, V_{final} é a velocidade final em que os animais interromperam o exercício, t é o tempo total de exercício e ΔV é a variação da velocidade em cada estágio, ou seja $1\text{m}\cdot\text{min}^{-1}$ a cada 2 min (KUIPERS *et al.*, 1985).

2.8.1 Variável calculada

- Taxa de elevação das temperaturas hipotalâmica e abdominal ($^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$): A taxa de elevação das temperaturas hipotalâmica e abdominal foi calculada para verificar se a velocidade de aumento destas temperaturas diferiu entre as situações experimentais realizadas nos diferentes ambientes.

$$\text{TET} = \frac{T_{\text{final}} - T_{\text{inicial}}}{\text{TTE}}$$

sendo:

TET: taxa de elevação da temperatura ($^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$);

T_{inicial} : temperatura inicial ($^{\circ}\text{C}$);

T_{final} : temperatura final ($^{\circ}\text{C}$);

TTE: tempo total de exercício físico (min).

2.8.2 Variáveis de controle

- Temperatura da câmara ambiental ($^{\circ}\text{C}$): As condições ambientais (temperaturas: 25°C e 12°C e umidade relativa do ar a 50%) foram controladas por uma câmara ambiental.
- Temperatura no interior da esteira rolante ($^{\circ}\text{C}$): A temperatura seca no interior da esteira foi medida a cada min, utilizando um termopar (Yellow Spring Instruments – YSI, Dayton, EUA) posicionado na parte superior da esteira, acoplado a um teletermômetro (YSI modelo 400A).

- Massa corporal dos animais (g): Os animais foram pesados antes da realização dos experimentos por meio de uma balança eletrônica (Filizola®) com precisão de 0,5 g. A massa corporal foi utilizada como parâmetro para verificar a recuperação cirúrgica.

2.9 Eutanásia

Após a última situação experimental, os animais do protocolo 1 foram anestesiados profundamente com uma concentração de anestésico que correspondeu a 1,5 vezes a concentração utilizada nos procedimentos cirúrgicos (Ketamina 135 mg/kg e Xilazina 16 mg/kg, i.p). Incisões longitudinais na pele e no músculo reto abdominal foram realizadas e o sensor de temperatura abdominal foi retirado. A incisão foi ampliada e o diafragma foi seccionado, permitindo acesso ao coração. A artéria aorta ascendente foi canulada, um corte foi realizado no átrio direito, e o animal foi perfundido com 100 mL de salina 0,9% contendo heparina (5000 U). Assim que todo o sangue do animal foi substituído por solução salina heparinizada, o animal foi perfundido com 300 mL de formaldeído a 4%. O cérebro foi retirado e mantido em formaldeído a 4% na temperatura de 4°C. Três dias antes de cortar o cérebro no criostato, o tecido foi transferido do formaldeído para uma solução de sacarose a 30%.

Os animais do protocolo 2 foram eutanasiados com uma dose letal de anestésico, que correspondeu a 3 vezes a concentração utilizada nos procedimentos cirúrgicos (Ketamina 270 mg/kg e Xilazina 31,5 mg/kg, i.p). Em seguida, incisões longitudinais na pele e no músculo reto abdominal foram realizadas e o sensor de temperatura abdominal foi retirado.

2.10 Verificação histológica

Os cérebros dos animais foram cortados, a - 20°C, em fatias de 50 µm em um micrótomo de congelamento (Microm HM 505N, Riverstone, NSW, EUA). As fatias foram fixadas a lâminas gelatinizadas. As lâminas foram inicialmente desidratadas quando colocadas em soluções com álcool etílico. Em seguida, o tecido foi hidratado em água destilada e então corado em solução de cresil violeta. Esse corante reage com a parte ácida dos núcleos cerebrais, gerando uma coloração roxa. Os cortes cerebrais foram banhados em soluções para retirar o excesso de corante. Por fim, as lâminas foram mantidas em xilol para tornar os cortes translúcidos, facilitando a visualização no microscópio. O tecido cerebral foi protegido por uma lamínula posicionada sobre cada lâmina com auxílio de cola Biosintética (Entelan, Merck, Darmstadt, Hessen, Alemanha). A área lesionada do tecido cerebral foi utilizada para identificar a posição do sensor de temperatura cerebral, utilizando-se o Atlas de Paxinos e Watson (2007) como referência. O protocolo de coloração das lâminas está descrito na TAB. 1.

TABELA 1 - Protocolo de coloração dos tecidos cerebrais com cresil violeta.

| | Substância | Tempo de imersão (min) |
|-----|----------------------|------------------------|
| 1. | Álcool etílico 95% | 15 |
| 2. | Álcool etílico 70% | 1 |
| 3. | Álcool etílico 50% | 1 |
| 4. | Água destilada | 2 |
| 5. | Água destilada | 1 |
| 6. | Cresil violeta 0,13% | 2 |
| 7. | Água destilada | 1 |
| 8. | Álcool etílico 50% | 1 |
| 9. | Álcool etílico 70% | 2 |
| 10. | Álcool etílico 95% | 2 |
| 11. | Álcool etílico 95% | 3-5 mergulhos |
| 12. | Álcool etílico 100% | 1 |
| 13. | Xilol | 1-2 |

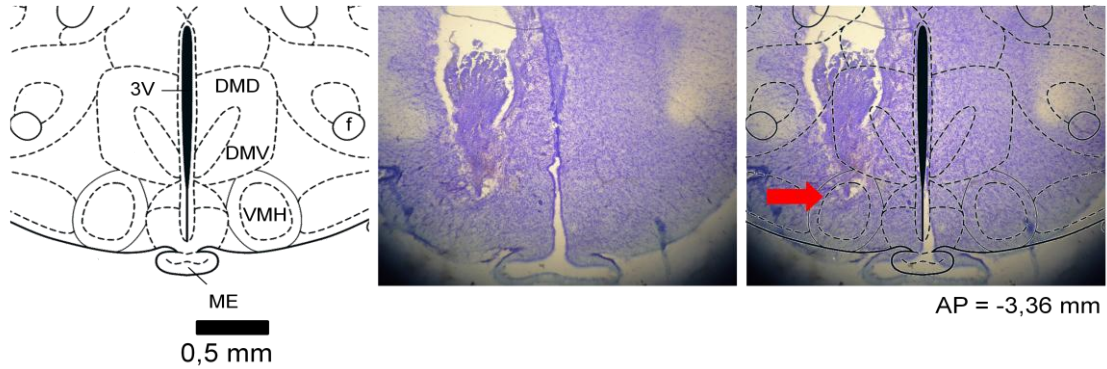
2.11 Análise estatística

Para verificação da normalidade e homocedasticidade dos dados foram utilizados os testes de Shapiro – Wilk e Levene, respectivamente. Os dados foram expressos como média \pm erro padrão da média. A comparação das temperaturas hipotalâmica e abdominal entre as situações experimentais e ao longo do tempo foi realizada por meio da análise de variância (ANOVA) com medidas repetidas e dois fatores (tempo e tratamento: temperatura ambiente e local de medida - temperatura cerebral e abdominal), seguida do teste *post hoc* de Tukey. O tempo total de exercício, a velocidade máxima alcançada e a taxa de elevação da temperatura hipotalâmica foram comparados por meio do teste *t* de Student pareado. A associação entre a taxa de elevação das temperaturas hipotalâmica ou abdominal e o desempenho foi verificada por meio do coeficiente de correlação de Pearson. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

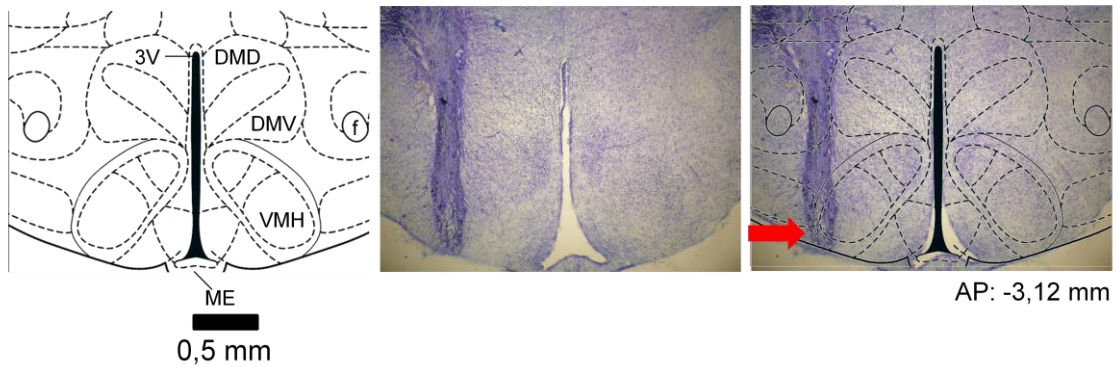
3 RESULTADOS

3.1 Localização da cânula guia cerebral

A. VMH



B. VMH



C. Peri-VMH

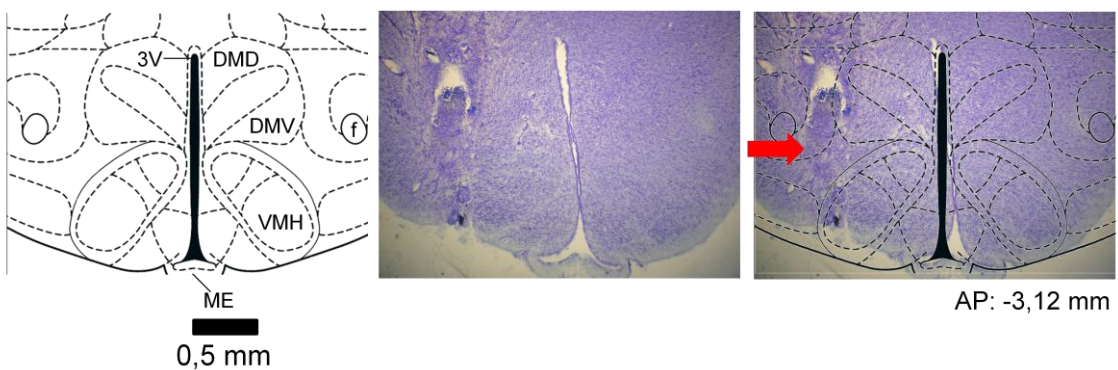


FIGURA 5 - Fotomicrografias de secções coronais coradas com cresil violeta de dois animais nos quais o sensor de temperatura cerebral foi posicionado corretamente no VMH (painéis A e B) e de um rato no qual o sensor foi inserido em uma área lateral ao VMH, passando sobre o fórnice (painel C). No lado esquerdo dos painéis estão representadas as secções coronais esquemáticas, incluindo as estruturas do hipotálamo medial. *Legenda:* AP, coordenada ântero-posterior; DMD, parte dorsal do núcleo dorsomedial do hipotálamo; DMV, parte ventral do núcleo dorsomedial do hipotálamo; f, fórnice; ME, eminência mediana; 3V, terceiro ventrículo; VMH, núcleo ventromedial do hipotálamo.

Dos 20 ratos utilizados nos procedimentos realizados no protocolo 1, 50% dos animais tiveram o sensor de temperatura cerebral posicionado corretamente no VMH e em 50% dos ratos o sensor atingiu áreas hipotalâmicas próximas ao VMH. A FIG. 5 mostra fotomicrografias de secções coronais coradas com cresil violeta de dois animais nos quais o sensor de temperatura cerebral foi posicionado corretamente no VMH (painéis A e B) e de um rato no qual o sensor foi inserido em uma área lateral ao VMH, passando sobre o fórnice (painel C). No lado esquerdo dos painéis, estão representadas as secções coronais esquemáticas, incluindo as estruturas do hipotálamo medial, e a seta representa a localização da ponta do sensor.

3.2 Temperaturas hipotalâmica e abdominal e desempenho durante o exercício físico com velocidade constante realizado nas temperaturas ambientes de 25°C e 12°C

3.2.1 Animais em que o sensor de temperatura cerebral foi inserido no VMH

O GRAF. 1 representa o tempo total de exercício durante a corrida em esteira rolante, com velocidade constante, realizada até a interrupção voluntária do esforço, nas temperaturas ambientes de 25°C e 12°C. O TTE foi 112% maior quando o exercício físico foi realizado sem modificação da temperatura no VMH (temperatura ambiente de 12°C) quando comparado à corrida em ambiente termoneutro ($67,1 \pm 13,7$ min a 12°C vs. $31,5 \pm 5,6$ min a 25°C; $n = 7$; $p = 0,04$), que induziu aumento da temperatura no VMH.

Exercício físico com velocidade constante

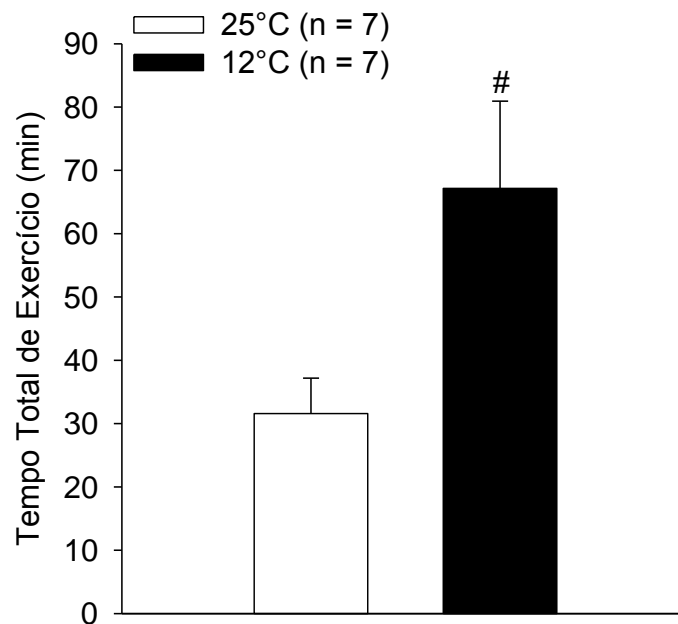


GRÁFICO 1 - Tempo total de exercício durante a corrida em esteira com velocidade constante, realizada até a interrupção voluntária do esforço, nas temperaturas ambientes de 25°C e 12°C. *Legenda:* VMH, núcleo ventromedial do hipotálamo. (#) diferença em relação ao grupo controle.

O GRAF. 2A mostra a temperatura no VMH durante o exercício físico com velocidade constante realizado até a interrupção voluntária do esforço, nas temperaturas ambientes de 25°C e 12°C. Durante o exercício a 25°C, a temperatura no VMH aumentou a partir do 4º minuto e permaneceu elevada até a IVE ($37,68 \pm 0,06^{\circ}\text{C}$ min zero vs. $39,16 \pm 0,09^{\circ}\text{C}$ IVE; $p < 0,001$). Entretanto, durante o exercício a 12°C a temperatura no VMH permaneceu inalterada do início até a interrupção do exercício físico ($37,39 \pm 0,28^{\circ}\text{C}$ min zero vs. $37,71 \pm 0,20^{\circ}\text{C}$ IVE; $p = 0,63$). Além disso, a temperatura no VMH foi menor a partir do 4º minuto de exercício a 12°C em relação à situação controle ($37,41 \pm 0,35^{\circ}\text{C}$ a 12°C vs. $38,27 \pm 0,07^{\circ}\text{C}$ a 25°C aos 4 minutos; $p = 0,02$).

Exercício físico com velocidade constante: VMH

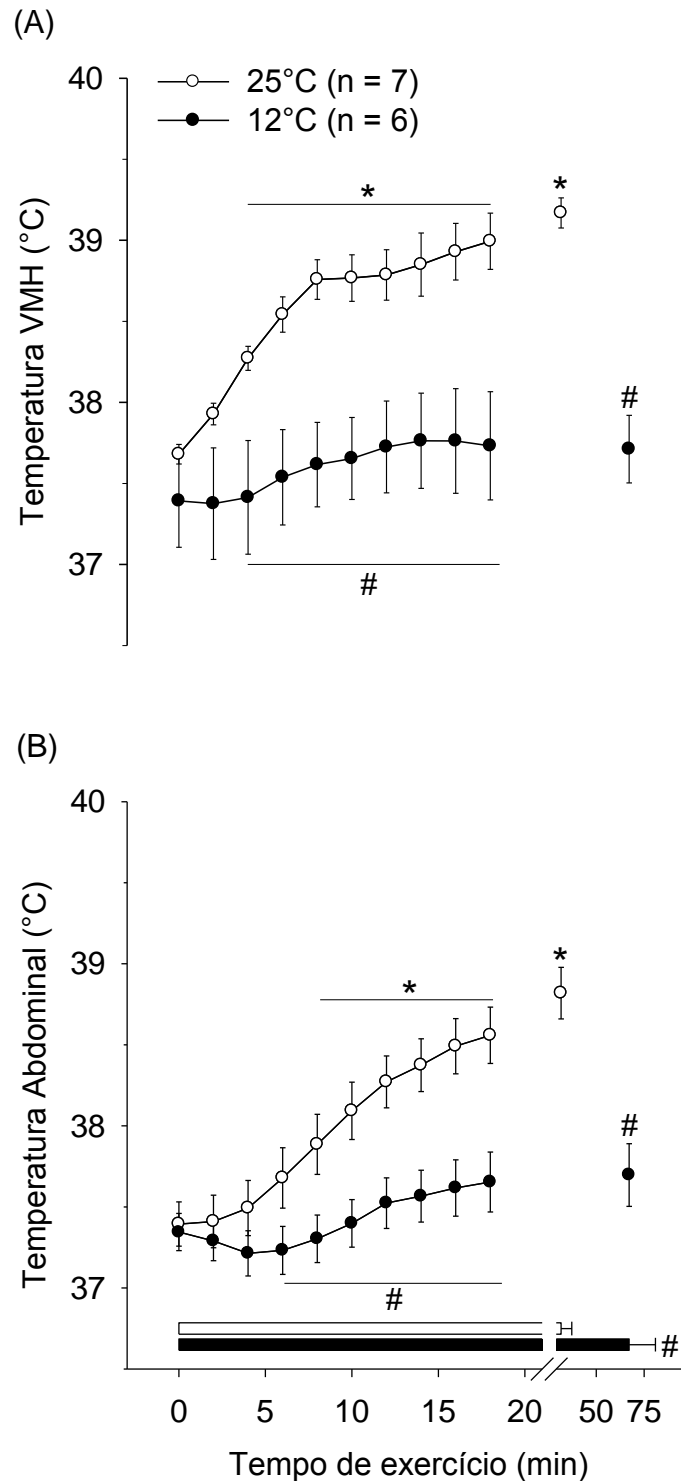


GRÁFICO 2 - Temperatura VMH (A), temperatura abdominal e desempenho (B) durante o exercício físico com velocidade constante realizado até a interrupção voluntária do esforço, nas temperaturas ambientes de 25°C e 12°C. *Legenda:* VMH, núcleo ventromedial do hipotálamo. As barras horizontais indicam o tempo total de exercício físico realizado no ambiente de 25°C (branca) e 12°C (preta). (*) diferença em relação ao minuto zero; (#) diferença em relação ao grupo controle.

Como esperado, a temperatura abdominal aumentou durante o exercício realizado no ambiente termoneutro e permaneceu elevada até a IVE ($37,39 \pm 0,13^{\circ}\text{C}$ min zero vs. $38,81 \pm 0,15^{\circ}\text{C}$ IVE; $p < 0,001$). Quando o exercício foi realizado em ambiente de 12°C , a temperatura abdominal, assim como a temperatura no VMH, também permaneceu inalterada ($37,34 \pm 0,11^{\circ}\text{C}$ min zero vs. $37,69 \pm 0,19^{\circ}\text{C}$ IVE; $p = 0,20$; GRAF. 2B).

O GRAF. 3 apresenta a taxa de elevação da temperatura no VMH durante o exercício físico com velocidade constante realizado até a interrupção voluntária do esforço, nas temperaturas ambientes de 25°C e 12°C . Foram observados valores próximos de zero durante o exercício físico realizado no ambiente a 12°C e menores quando comparados à situação controle ($0,006 \pm 0,007^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ a 12°C vs. $0,053 \pm 0,006^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ a 25°C ; $p = 0,0004$).

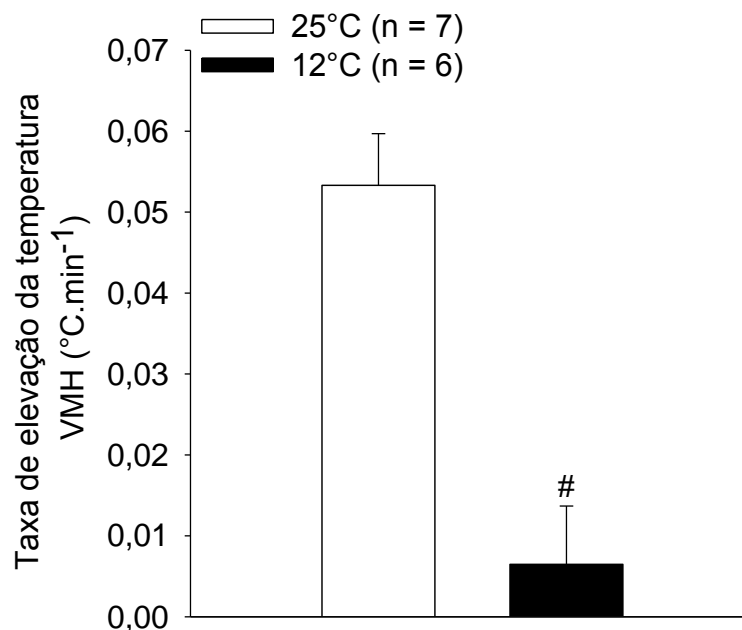


GRÁFICO 3 - Taxa de elevação da temperatura no núcleo ventromedial do hipotálamo (VMH) durante o exercício físico com velocidade constante realizado até a interrupção voluntária do esforço, nas temperaturas ambientes de 25°C e 12°C . (#) diferença em relação ao grupo controle.

Quando os ratos exercitaram no ambiente termoneutro, foi encontrada uma correlação negativa e significativa entre a taxa de elevação da temperatura no VMH e o tempo total de exercício ($r = -0,90$; $r^2 = 0,81$; $p = 0,005$; GRAF. 4A). Por outro lado, essa correlação não foi significativa quando os animais correram com a temperatura ambiente mantida em 12°C ($r = -0,15$; $r^2 = 0,02$; $p = 0,77$; GRAF. 4B).

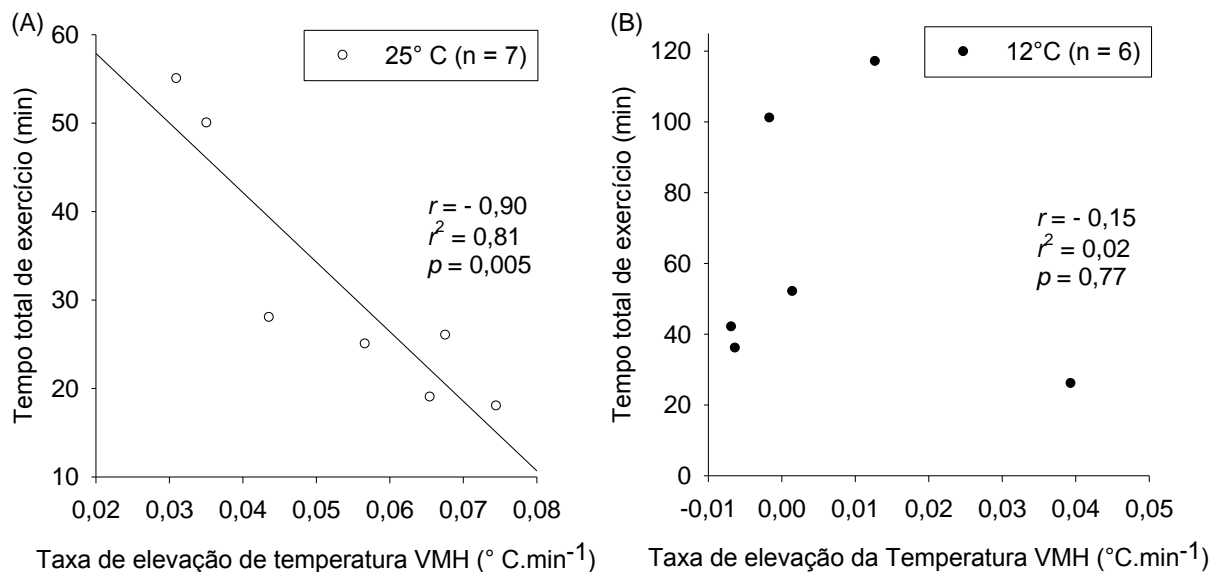


GRÁFICO 4 - Correlação entre a taxa de elevação da temperatura no núcleo ventromedial do hipotálamo (VMH) e tempo total de exercício com velocidade constante realizado nos ambientes de 25°C (A) e 12°C (B).

Além disso, também não foram encontradas correlações significativas entre a taxa de elevação da temperatura abdominal e desempenho durante o exercício físico realizado no ambiente de 25°C ($r = -0,53$; $r^2 = 0,28$; $p = 0,21$; GRAF. 5A) ou de 12°C ($r = -0,18$; $r^2 = 0,03$; $p = 0,72$; GRAF. 5B).

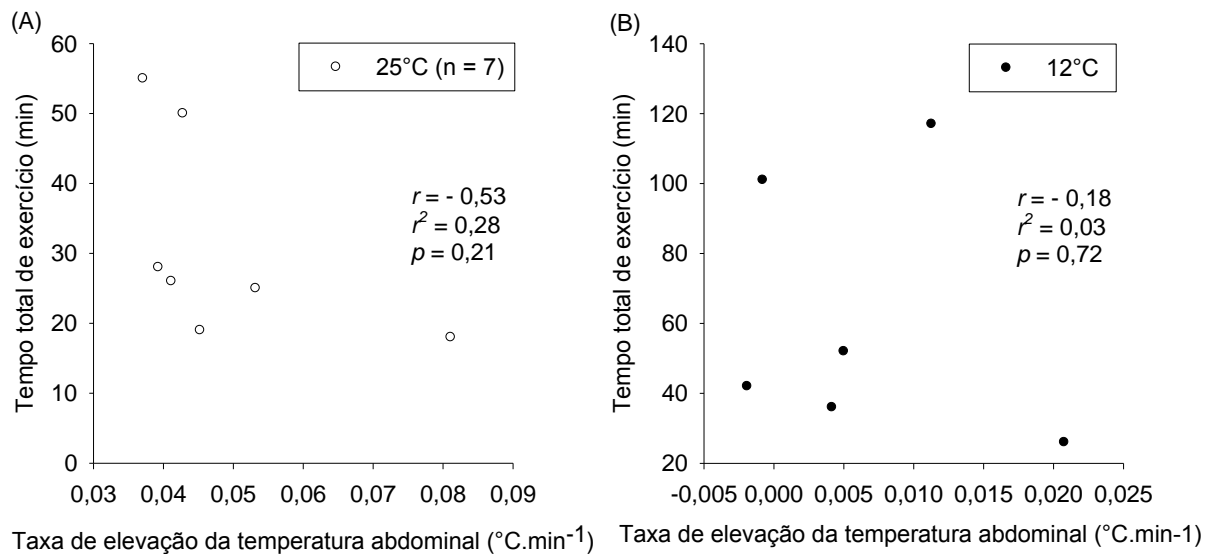


GRÁFICO 5 - Correlação entre a taxa de elevação da temperatura abdominal e tempo total de exercício com velocidade constante realizado nos ambientes de 25°C (A) e 12°C (B).

3.2.2 Comparação das temperaturas hipotalâmica e abdominal durante o exercício físico realizado a 25°C e a 12°C

O GRAF. 6A mostra as temperaturas hipotalâmica e abdominal durante o exercício realizado a 25°C. Nessa situação experimental, a temperatura no VMH aumentou mais rápido quando comparada à temperatura abdominal. A temperatura no VMH aumentou a partir do 4º minuto de exercício ($37,68 \pm 0,06^\circ\text{C}$ min zero vs. $38,27 \pm 0,07^\circ\text{C}$ aos 4 min; $p = 0,01$), enquanto a temperatura abdominal aumentou a partir do 8º minuto ($37,39 \pm 0,13^\circ\text{C}$ min zero vs. $37,88 \pm 0,18^\circ\text{C}$ aos 8 min; $p = 0,007$). Além disso, a temperatura no VMH foi maior que a temperatura abdominal a partir do 2º minuto ($T_{\text{VMH}}: 37,92 \pm 0,06^\circ\text{C}$ vs. $T_{\text{abdominal}}: 37,41 \pm 0,16^\circ\text{C}$ aos 2 min; $p = 0,006$) até o final do exercício físico.

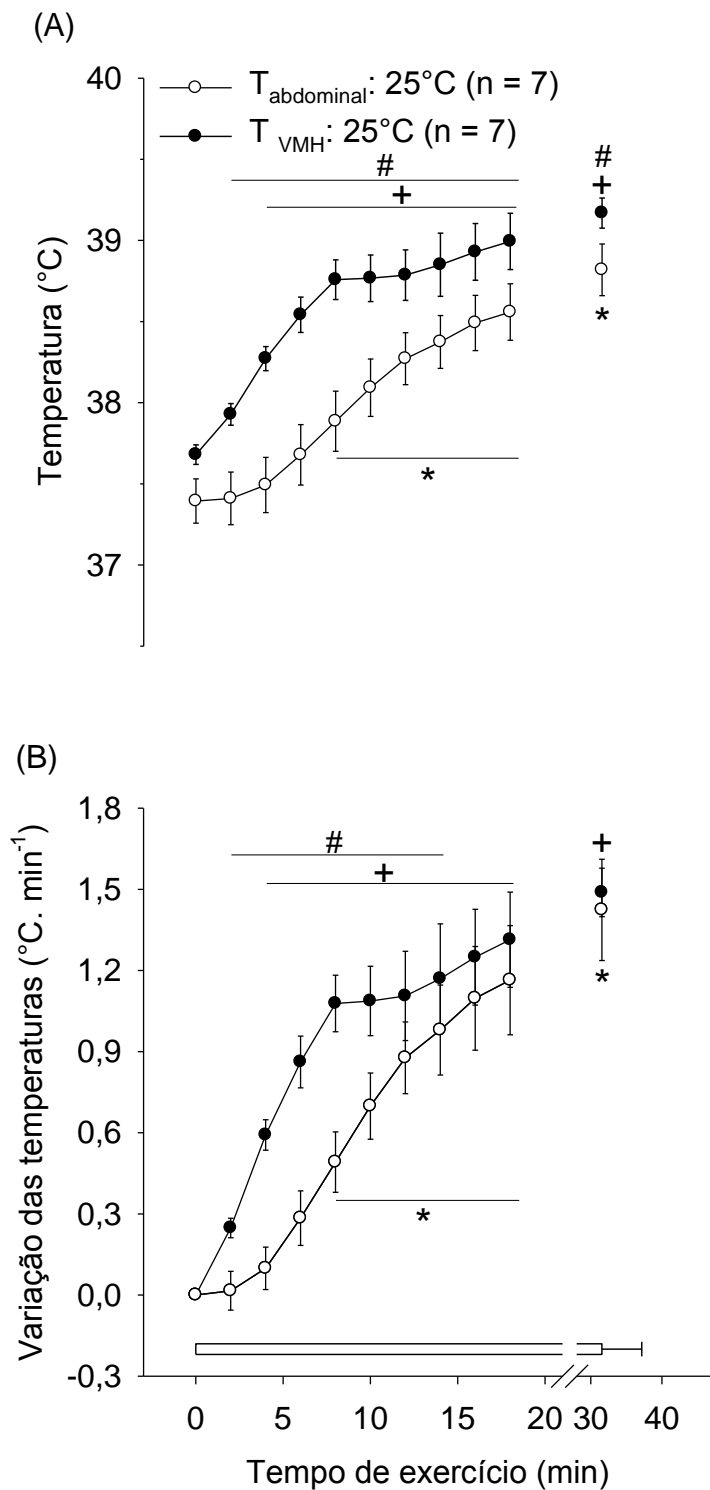


GRÁFICO 6 - Temperaturas no VMH e abdominal (A), variação das temperaturas no VMH e abdominal e desempenho (B) durante o exercício físico com velocidade constante realizado até a interrupção voluntária do esforço, na temperatura ambiente de 25°C . *Legenda:* VMH, núcleo ventromedial do hipotálamo. A barra horizontal indica o tempo total de exercício físico realizado a 25°C . Diferença em relação ao minuto zero: (*) $T_{\text{abdominal}}$; (+) T_{VMH} ; (#) diferença em relação ao grupo controle.

O GRAF. 6B apresenta os mesmos dados do GRAF. 6A, no entanto, os dados estão apresentados em relação à variação das temperaturas hipotalâmica e abdominal durante o exercício físico. A variação da temperatura hipotalâmica aumentou a partir do 4º minuto ($0,59 \pm 0,05^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ aos 4 min) e a variação da temperatura abdominal a partir do 8º minuto ($0,09 \pm 0,07^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ aos 8 min). Além disso, a variação da temperatura hipotalâmica foi maior que a variação da temperatura abdominal entre o 2º e 14º minuto ($T_{\text{VMH}}: 1,07 \pm 0,10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ vs. $T_{\text{abdominal}}: 0,50 \pm 0,11^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ aos 8 min, $p = 0,0001$).

O GRAF. 7 apresenta as temperaturas no VMH e abdominal durante o exercício físico realizado a 12°C . Não houve diferença entre as temperaturas no VMH e abdominal em qualquer momento do exercício realizado na temperatura ambiente de 12°C .

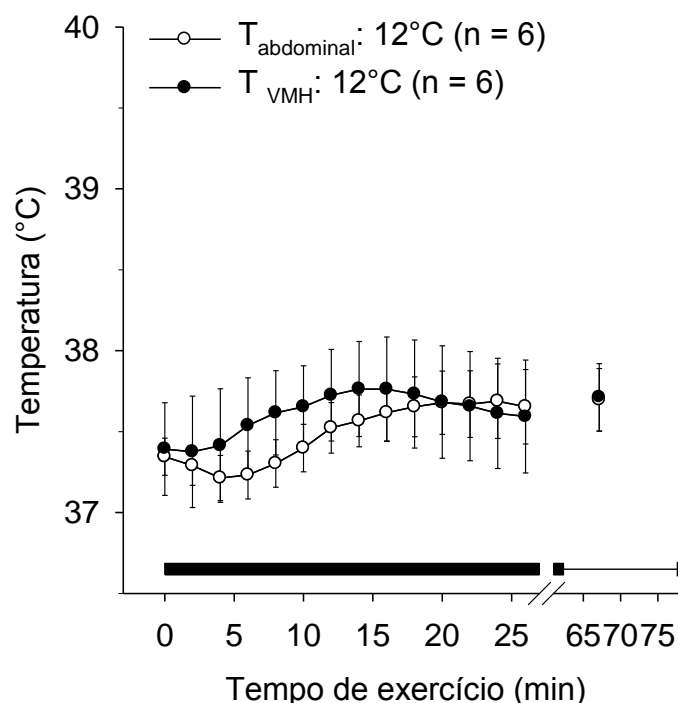


GRÁFICO 7 - Temperaturas no VMH, abdominal e desempenho durante o exercício físico com velocidade constante realizado até a interrupção voluntária do esforço, na temperatura ambiente de 12°C . *Legenda:* VMH, núcleo ventromedial do hipotálamo. A barra horizontal indica o tempo total de exercício físico realizado a 12°C .

3.2.3 Animais em que o sensor foi inserido em áreas hipotalâmicas próximas ao VMH

Em 10 dos 20 animais utilizados no protocolo 1, o sensor de temperatura cerebral foi posicionado fora do VMH. No entanto, o sensor atingiu áreas hipotalâmicas próximas ao VMH, as quais foram denominadas em conjunto como área Peri-VMH.

O GRAF. 8 mostra o tempo total de exercício de animais que tiveram o sensor de temperatura cerebral inserido no VMH ou na área Peri-VMH. O exercício foi realizado com velocidade constante, nas temperaturas ambientes de 25°C e 12°C. O TTE foi maior quando o exercício foi realizado na temperatura ambiente de 12°C em comparação com 25°C, tanto para os animais que tiveram o sensor inserido no VMH ($67,1 \pm 13,7$ min a 12°C vs. $31,5 \pm 5,6$ min a 25°C; $n = 7$; $p = 0,04$) quanto para os animais que tiveram o sensor inserido na área Peri-VMH ($75,8 \pm 13,2$ min a 12°C vs. $38,4 \pm 6,1$ min a 25°C; $n = 7$; $p = 0,03$). Além disso, o TTE dos ratos que tiveram o sensor inserido corretamente no VMH não foi diferente dos animais que tiveram o sensor inserido em áreas hipotalâmicas próximas ao VMH, independente da temperatura ambiente na qual o exercício foi realizado.

Exercício físico com velocidade constante

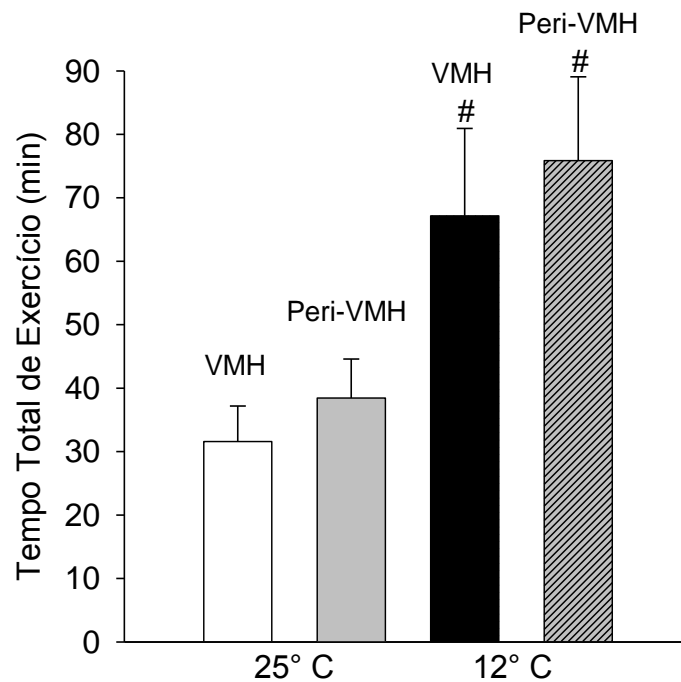


GRÁFICO 8 - Tempo total de exercício de animais que tiveram o sensor de temperatura cerebral inserido no VMH ou na área Peri-VMH. O exercício foi realizado com velocidade constante, nas temperaturas ambientes de 25°C e 12°C. *Legenda:* VMH, núcleo ventromedial do hipotálamo; Peri-VMH, áreas hipotalâmicas próximas ao núcleo ventromedial do hipotálamo. (#) diferença em relação às situações experimentais realizadas na temperatura ambiente de 25°C; para uma dada localização da cânula guia no hipotálamo (n = 7).

A temperatura medida nas áreas Peri-VMH não apresentou resposta diferente da temperatura medida no VMH. Na temperatura ambiente de 25°C, a temperatura Peri-VMH aumentou a partir do 4º minuto ($37,64 \pm 0,13^{\circ}\text{C}$ min zero vs. $38,25 \pm 0,10^{\circ}\text{C}$ aos 4 min; $p = 0,01$) e permaneceu elevada até a IVE. No ambiente de 12°C, a temperatura Peri-VMH também permaneceu inalterada do início até a interrupção voluntária do esforço ($37,39 \pm 0,09^{\circ}\text{C}$ min zero vs. $37,55 \pm 0,35^{\circ}\text{C}$ IVE; $p = 0,9$). Além disso, a temperatura Peri-VMH foi menor a partir do 2º minuto até a interrupção da corrida durante o exercício físico realizado a 12°C comparado ao grupo controle (GRAF. 9A).

Exercício físico com velocidade constante: Peri-VMH

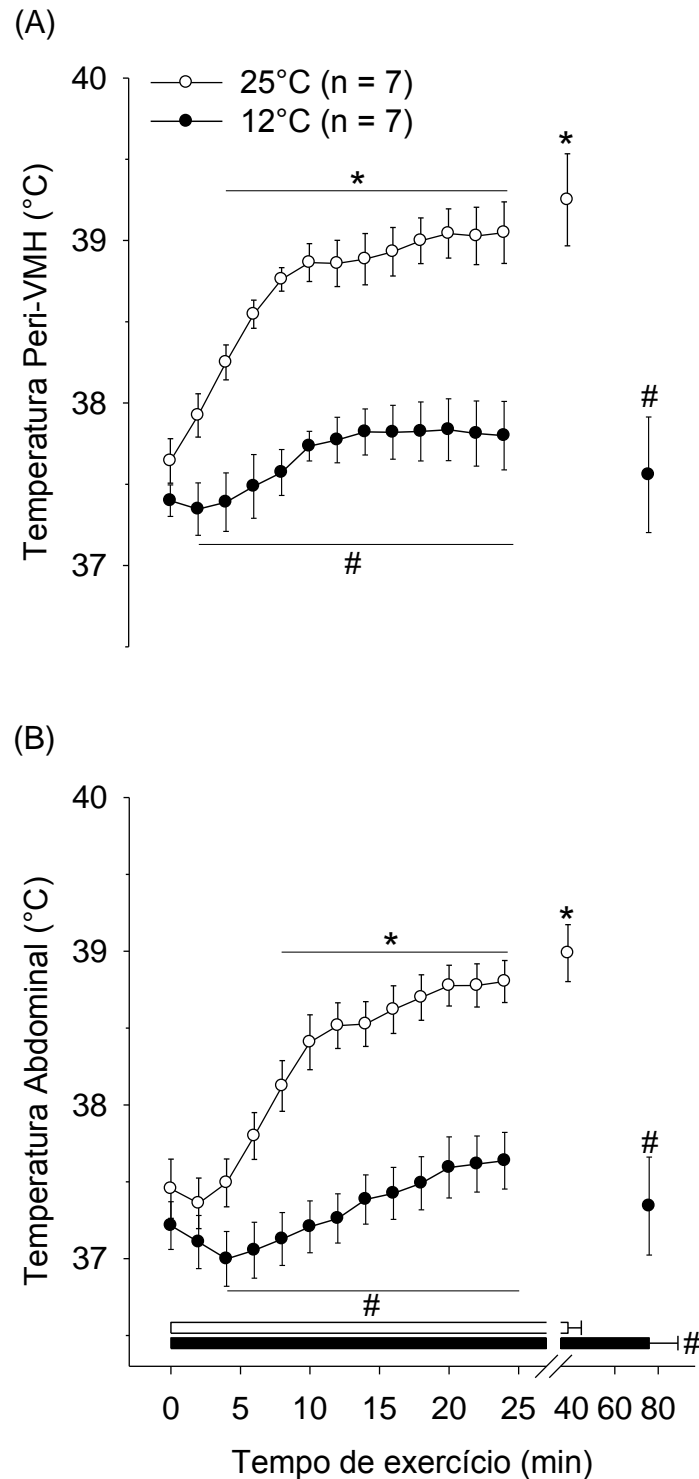


GRÁFICO 9 - Temperatura Peri-VMH (A), temperatura abdominal e desempenho (B) durante o exercício físico com velocidade constante realizado até a interrupção voluntária do esforço, nas temperaturas ambientes de 25°C e 12°C. *Legenda:* Peri-VMH, áreas hipotalâmicas próximas ao núcleo ventromedial do hipotálamo. As barras horizontais indicam o tempo total de exercício físico realizado no ambiente de 25°C (branca) e 12°C (preta). (*) diferença em relação ao minuto zero; (#) diferença em relação ao grupo controle.

Como esperado, a temperatura abdominal aumentou a partir do 8º minuto ($37,45 \pm 0,19^\circ\text{C}$ min zero vs. $38,12 \pm 0,16^\circ\text{C}$ aos 8 min; $p < 0,001$) e permaneceu elevada até a IVE durante o exercício realizado no ambiente de 25°C . Quando o exercício foi realizado na temperatura ambiente de 12°C , a temperatura abdominal não foi alterada do início até a IVE ($37,21 \pm 0,15^\circ\text{C}$ min zero vs. $37,34 \pm 0,31^\circ\text{C}$ IVE; $p = 1,00$; GRAF. 9B).

3.3 Temperaturas hipotalâmica e abdominal durante o repouso nas temperaturas ambientes de 25°C e 12°C

Quando os animais foram submetidos à temperatura de 12°C por 60 min, em repouso na esteira, a temperatura no VMH aumentou a partir do 4º minuto ($37,62 \pm 0,15^\circ\text{C}$ zero min vs. $38,00 \pm 0,09^\circ\text{C}$ aos 4 min; $p = 0,03$) e permaneceu elevada até o final do período de exposição. No entanto, quando os animais permaneceram por 60 min em repouso na própria gaiola, em temperatura ambiente de 25°C , não foram observadas diferenças nos valores da temperatura no VMH do início ao final deste período ($38,20 \pm 0,15^\circ\text{C}$ min zero vs. $38,01 \pm 0,12^\circ\text{C}$ 60 min; $p = 0,8$). Quando os animais foram expostos ao ambiente frio, a temperatura no VMH foi menor no minuto zero quando comparado ao ambiente termoneutro. Além disso, a temperatura no VMH durante o repouso no ambiente frio foi maior a partir do 14º minuto quando comparado ao ambiente termoneutro (GRAF. 10A).

Como esperado, durante o período de repouso na esteira na temperatura ambiente de 12°C , a temperatura abdominal aumentou a partir do 40º minuto ($37,42 \pm 0,17^\circ\text{C}$ min zero vs. $37,81 \pm 0,20^\circ\text{C}$ aos 40 min, $p = 0,04$) e também permaneceu elevada até o final da exposição ao ambiente frio. No entanto, a temperatura abdominal, assim como a temperatura no VMH, não foi alterada durante o repouso na gaiola no ambiente de 25°C . Além disso, não houve diferença entre as situações experimentais (GRAF. 10B).

Quando os animais que tiveram o sensor de temperatura cerebral inserido em áreas hipotalâmicas próximas ao VMH (Peri-VMH) foram submetidos à temperatura de 12°C por 60 min, em repouso na esteira, a temperatura Peri-VMH aumentou a partir do 8º minuto ($37,59 \pm 0,09^\circ\text{C}$ zero min vs. $38,18 \pm 0,16^\circ\text{C}$ aos 8 min; $p = 0,001$) e permaneceu elevada até o final do período de exposição. No entanto, quando os animais permaneceram por 60 min em repouso na própria gaiola, em temperatura ambiente de 25°C, não foram observadas diferenças nos valores da temperatura Peri-VMH do início ao final deste período ($37,88 \pm 0,13^\circ\text{C}$ min zero vs. $38,11 \pm 0,16^\circ\text{C}$ 60 min; $p = 1,00$). Além disso, houve diferença entre as situações experimentais entre o 24º e 48º minutos (GRAF. 10C).

Durante o período de repouso na esteira na temperatura ambiente de 12°C, a temperatura abdominal foi menor no 6º minuto ($37,48 \pm 0,11^\circ\text{C}$ min zero vs. $37,00 \pm 0,19^\circ\text{C}$ aos 6 min; $p = 0,003$). No entanto, a temperatura abdominal, assim como a temperatura Peri-VMH, não foi alterada durante o repouso na gaiola no ambiente de 25°C. Não houve diferença entre as situações experimentais (GRAF. 10D).

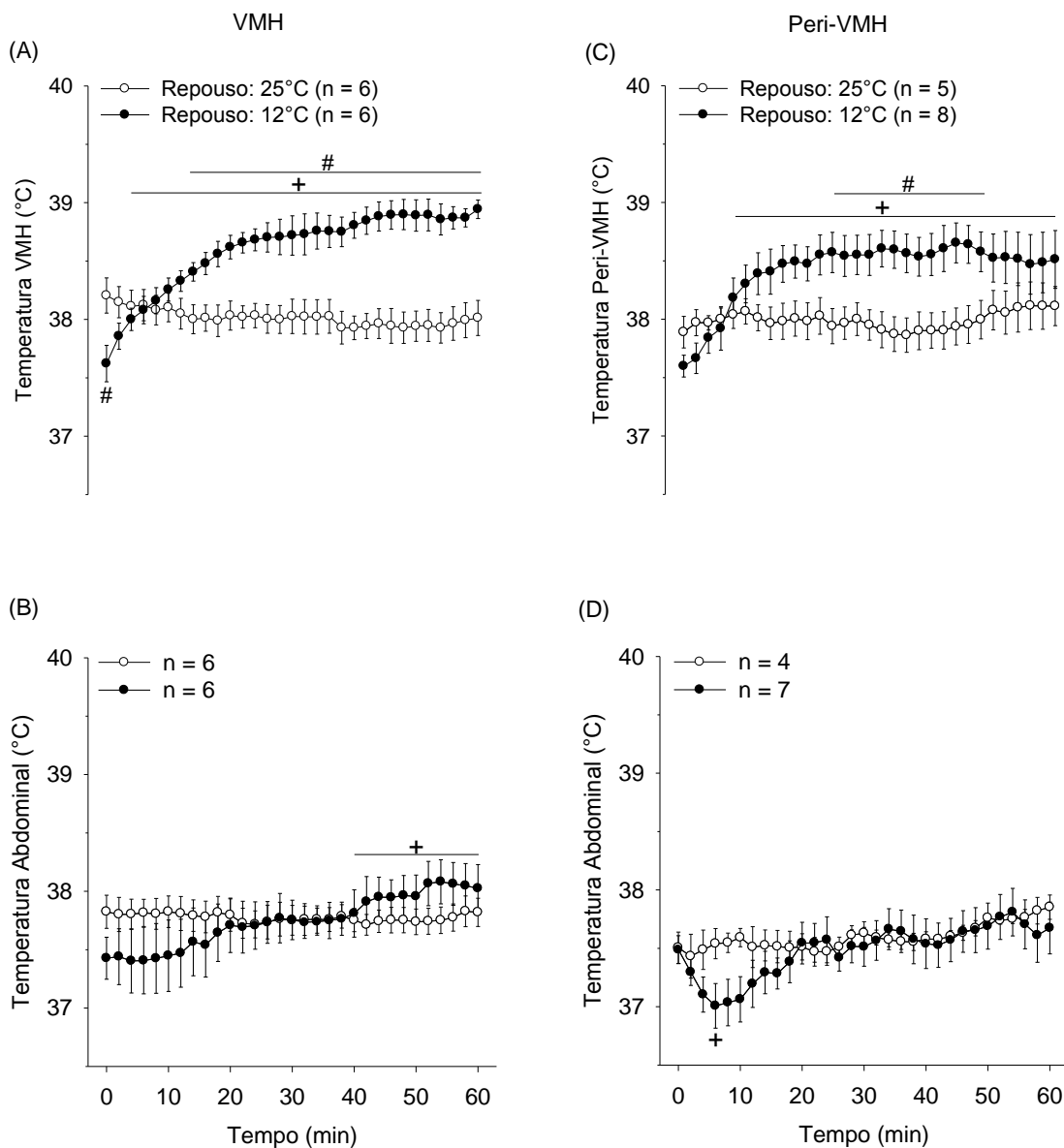


GRÁFICO 10 - Temperaturas no VMH (A), Peri-VMH (C) e abdominal (B e D) durante o período de 60 minutos de repouso na gaiola, na temperatura ambiente de 25°C, e durante 60 minutos de repouso na esteira, na temperatura ambiente de 12°C. *Legenda:* $T_{\text{abdominal}}$, temperatura abdominal; T_{VMH} , temperatura no núcleo ventromedial do hipotálamo; $T_{\text{Peri-VMH}}$, temperatura em áreas hipotalâmicas próximas ao núcleo ventromedial do hipotálamo. Diferença em relação ao minuto zero: (+) repouso na esteira; (#) diferença entre as situações experimentais.

3.4 Temperatura abdominal e desempenho durante o exercício físico com aumentos progressivos da velocidade realizados nas temperaturas ambientes de 25°C e 12°C

A partir dos resultados obtidos no protocolo 1 foi realizado o protocolo 2. O GRAF. 11 mostra a velocidade máxima alcançada durante o exercício físico com aumentos progressivos da velocidade até a interrupção voluntária do esforço, realizado nas temperaturas ambientes de 25°C e 12°C. A velocidade máxima alcançada no exercício realizado a 12°C foi 16% maior ($31,2 \pm 0,7 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$; $n = 8$) que a velocidade máxima atingida durante o exercício realizado na temperatura ambiente de 25°C ($26,4 \pm 1,7 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$; $n = 8$; $p = 0,02$).

Exercício físico com aumentos progressivos da velocidade

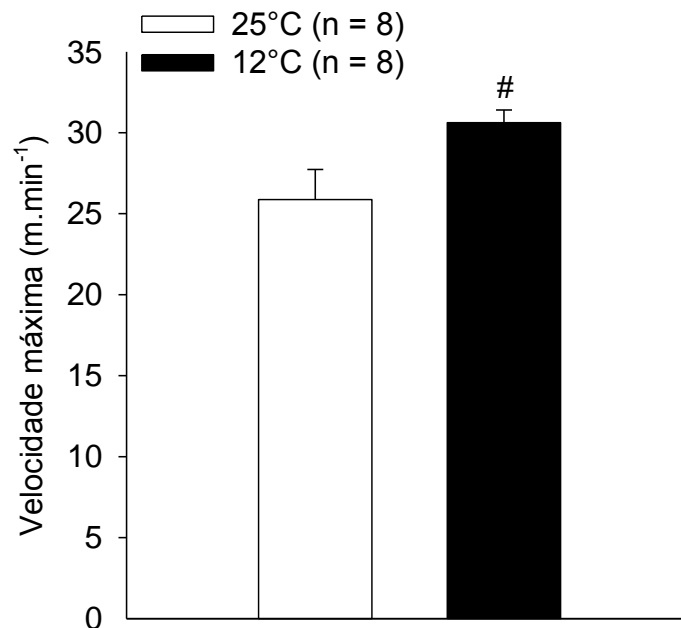


GRÁFICO 11 - Velocidade máxima alcançada durante o exercício físico, com aumentos progressivos da velocidade até a interrupção voluntária do esforço, nas temperaturas ambientes de 25°C e 12°C. (#) diferença em relação ao grupo controle.

Durante o exercício físico com aumentos progressivos da velocidade na temperatura ambiente de 25°C, a temperatura abdominal aumentou a partir de $15 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$ ($37,27$

$\pm 0,07^{\circ}\text{C}$ $10 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$ vs. $37,66 \pm 0,13^{\circ}\text{C}$ $15 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$; $p = 0,01$) e permaneceu elevada até a IVE ($38,64 \pm 0,19^{\circ}\text{C}$ IVE; $p < 0,001$). Entretanto, a temperatura abdominal diminuiu entre as velocidades de 12 e 17 $\text{m}\cdot\text{min}^{-1}$ ($37,37 \pm 0,06^{\circ}\text{C}$ a $10 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$ vs. $36,96 \pm 0,08^{\circ}\text{C}$ a $12 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$ e $36,99 \pm 0,16^{\circ}\text{C}$ a $17 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$; $p = 0,005$; $P = 0,01$, respectivamente) e não foi diferente entre a velocidade inicial e a velocidade máxima ($37,37 \pm 0,06^{\circ}\text{C}$ a $10 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$ vs. $37,31 \pm 0,18^{\circ}\text{C}$ IVE; $p = 1,00$) quando o exercício foi realizado na temperatura de 12°C (GRAF. 12).

Exercício com aumentos progressivos da velocidade

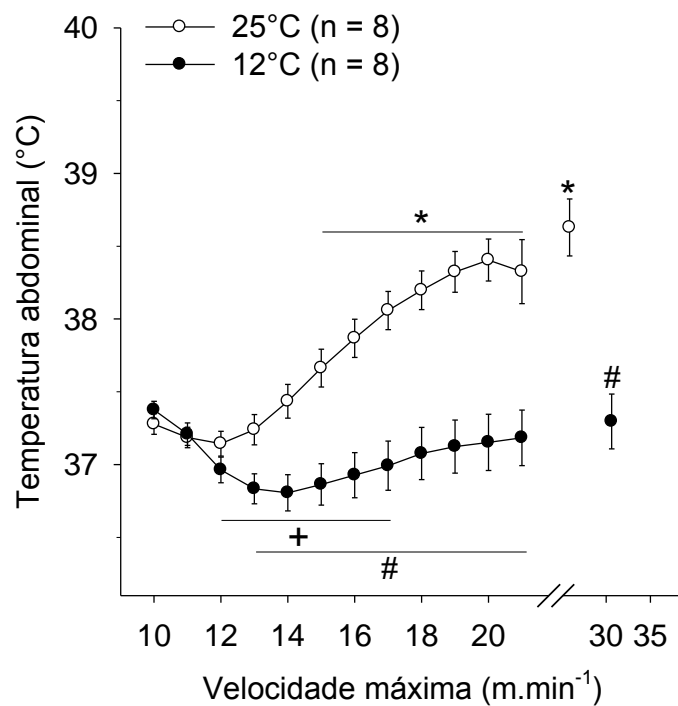


GRÁFICO 12 - Temperatura abdominal durante o exercício físico, com aumentos progressivos da velocidade até a interrupção voluntária do esforço, nas temperaturas ambientes de 25°C e 12°C . Diferença em relação ao minuto zero: (*) exercício realizado a 25°C ; (+) exercício realizado a 12°C ; (#) diferença em relação ao grupo controle.

4 DISCUSSÃO

O presente estudo mostrou que a temperatura no VMH permaneceu inalterada durante o exercício com velocidade constante realizado até a interrupção voluntária do esforço, na temperatura ambiente de 12°C. Além disso, o desempenho durante o exercício sem alteração da temperatura no VMH foi maior quando comparado ao exercício realizado no ambiente termoneutro, o qual induziu o aumento da temperatura no VMH. A padronização do método de *clamp* da temperatura hipotalâmica permite separar as respostas fisiológicas induzidas pelo exercício das respostas desencadeadas pelo aumento da temperatura cerebral induzido pelo exercício. Esta padronização permitiu o estudo da participação da temperatura hipotalâmica nos mecanismos relacionados à interrupção voluntária do esforço, já que na condição de *clamp* da temperatura hipotalâmica, esta não determinou a interrupção do exercício.

A temperatura cerebral é determinada primariamente pelo seu metabolismo, influenciada pelo fluxo sanguíneo cerebral e afetada pelo metabolismo do organismo e temperatura ambiente (KIYATKIN, 2007). A circulação sanguínea cerebral não somente remove o calor produzido, mas também fornece oxigênio e nutrientes para o cérebro (NIELSEN e NYBO, 2003). O calor gerado pelo metabolismo cerebral é removido pela circulação sanguínea, portanto, a temperatura do sangue venoso que retorna do cérebro é maior quando comparada à do sangue arterial (NYBO *et al.*, 2002*b*). Este sangue mais quente é conduzido para o coração e se mistura ao sangue proveniente das outras partes do corpo. O sangue conduzido aos pulmões é oxigenado e parte do calor é dissipado (KIYATKIN, 2007). Entretanto, durante o exercício físico, a dissipação do calor ocorre principalmente por meio da troca por convecção a partir da circulação sanguínea na superfície da pele, a qual possui temperatura mais elevada em comparação com o ambiente externo.

Durante o exercício agudo, o balanço térmico cerebral é influenciado pela intensidade do exercício, a qual determina a produção de calor nos músculos ativos, pelo próprio metabolismo neural e pela temperatura ambiente. No presente estudo, o *clamp* da temperatura hipotalâmica induzido pelo exercício físico e temperatura

ambiente ocorreu possivelmente, como consequência da troca de calor por meio de processos físicos, tais como a convecção entre a área de superfície corporal do animal e o ambiente frio e a condução do calor entre as patas do rato e o tapete da esteira. Estudos anteriores verificaram que durante o exercício realizado em baixas temperaturas, quando o gradiente de temperatura entre a pele e o ambiente está elevado, a convecção é a principal via de perda de calor (HODGSON *et al.*, 1994). É possível também que parte do calor produzido tenha sido dissipada através da circulação cutânea da cauda, principal via de perda de calor durante o exercício em ambiente termoneutro e através do trato respiratório, uma vez que o exercício induz aumento da ventilação pulmonar, aumentando a perda de calor pela evaporação da água, presente nas vias aéreas. Estes resultados corroboram o estudo de Guimarães *et al.* (2011), o qual encontrou o *clamp* da temperatura abdominal durante o exercício em temperatura ambiente de 12°C. Neste trabalho, foram testadas três temperaturas ambientes, 8, 12 e 15°C. O exercício realizado a 8°C induziu maior perda de calor comparada à produção, resultando em diminuição da temperatura abdominal. Já durante o exercício realizado a 15°C, a temperatura abdominal aumentou. Entretanto a temperatura abdominal permaneceu inalterada do início até o final do exercício quando este foi realizado na temperatura ambiente de 12°C. Além disso, nesta temperatura ambiente, a temperatura da pele da cauda permaneceu aproximadamente 2°C mais quente que a temperatura ambiente, indicando que possivelmente houve perda de calor por meio da circulação cutânea.

O *clamp* da temperatura no hipotálamo não foi específico ao VMH, uma vez que, quando o sensor de temperatura cerebral não foi posicionado corretamente no VMH e atingiu áreas hipotalâmicas próximas a este núcleo, denominadas no presente estudo como área Peri-VMH, também foi observado o *clamp* de temperatura durante o exercício físico realizado a 12°C (GRAF. 9A). Por outro lado, quando os animais foram mantidos em repouso na esteira no ambiente de 12° C, as temperaturas no VMH e Peri-VMH aumentaram e permaneceram elevadas durante toda a exposição ao ambiente frio (GRAF. 10A e 10B). Este resultado mostra que o *clamp* da temperatura hipotalâmica a 12°C é específico ao exercício físico. A exposição ao ambiente frio pode aumentar a perda de calor para o ambiente e assim reduzir a temperatura cerebral. Entretanto, esta diminuição pode ser sobreposta pela maior

conservação e produção de calor metabólico, por meio de mecanismos comportamentais e autonômicos (ROMANOVSKY *et al.*, 2007; 2009; YOSHIDA *et al.*, 2009). Dentre as respostas comportamentais, a diminuição da área de superfície corporal exposta ao ambiente e a diminuição da movimentação aumenta a capacidade insulativa, induzindo a elevação da temperatura interna (MÄKINEN *et al.*, 1996; GUIMARÃES *et al.*, 2011). Além dos mecanismos comportamentais, o ambiente frio estimula os receptores sensoriais localizados na pele e ativa a via aferente somatossensorial da pele para o hipotálamo, o qual induz respostas de defesa contra o frio, como a vasoconstrição dos vasos cutâneos, tremor e a termogênese induzida pelo tecido adiposo marrom (NAKAMURA; MORRISON, 2008b; ROMANOVSKY *et al.*, 2009). No presente estudo, foi observada diminuição na movimentação dos ratos no interior da esteira durante a exposição ao ambiente frio: os animais encolheram-se, reduzindo a área de superfície corporal exposta ao ambiente, mantiveram a cauda sob o corpo e apresentaram piloereção, mecanismos que contribuí para conservar o calor corporal.

As alterações metabólicas, circulatórias e a perda de calor do tecido cerebral durante o exercício são moduladas em função da intensidade do esforço e da temperatura ambiente. No presente estudo, quando o exercício foi realizado no ambiente termoneutro a temperatura no VMH (GRAF. 2A), assim como a temperatura na área Peri-VMH, aumentou progressivamente em $\sim 2^{\circ}\text{C}$ até a IVE (GRAF. 9A). Por outro lado, a temperatura hipotalâmica permaneceu inalterada durante o exercício realizado no ambiente de 12°C . O metabolismo do cérebro, o fluxo sanguíneo cerebral e a temperatura do sangue arterial são parâmetros fisiológicos que influenciam a temperatura cerebral (KIYATKIN, 2007). Considerando que a produção de calor metabólica nos músculos ativos e no cérebro durante o exercício em ambiente termoneutro e frio não seja diferente (MÄKINEN *et al.*, 1996), é possível que a menor temperatura do sangue, ao retornar da periferia do corpo, e o maior fluxo sanguíneo cerebral expliquem o *clamp* da temperatura hipotalâmica a 12°C . Quanto menor a temperatura ambiente, maior o gradiente entre esta e a temperatura do sangue na circulação cutânea, favorecendo a dissipação do calor produzido pelos músculos ativos e pelo cérebro durante o exercício. É possível também que, durante o exercício no frio, o fluxo sanguíneo cerebral seja maior em

comparação ao ambiente termoneutro, uma vez que no frio não existe necessidade de aumento do fluxo sanguíneo cutâneo para dissipar calor. Portanto, nessas condições, maior percentual do débito cardíaco pode ser direcionado ao cérebro.

A temperatura no VMH aumentou mais rápido quando comparado à temperatura abdominal durante o exercício físico realizado no ambiente termoneutro (GRAF. 6A). Corroborando os nossos achados, Abrams e Hammel (1964) avaliaram as temperaturas na área pré-óptica e no abdômen durante a alimentação e sono de ratos e verificaram que as alterações da temperatura na área pré-óptica ocorreram na mesma direção, mas ligeiramente anteriores às mudanças na temperatura abdominal. Entretanto, quando o exercício físico foi realizado a 12°C, a resposta da temperatura no VMH não foi diferente dos valores de temperatura abdominal (GRAF. 7).

É possível que a diferença entre as temperaturas no VMH e abdominal observada no ambiente termoneutro, principalmente durante o início do exercício, seja devido ao aumento da atividade simpática para o leito vascular esplânico (fígado, trato gastrointestinal, pâncreas e baço), para suprir a demanda aumentada dos músculos ativos. Ho *et al.* (1997) demonstraram, por meio de medidas indiretas, que o aumento do fluxo sanguíneo para a pele foi possível devido à diminuição (em relação aos valores percentuais do débito cardíaco) do fluxo sanguíneo esplânico e renal durante um exercício que aumentou a temperatura interna. Além disso, Miki *et al.* (2001) realizaram a medida direta da atividade do nervo simpático renal durante o exercício e observaram aumento da atividade simpática no leito vascular renal. Estes dados indicam que o exercício dinâmico pode aumentar a atividade do nervo simpático renal, induzindo vasoconstrição e, conseqüentemente, diminuição do fluxo sanguíneo nos rins (em relação aos valores percentuais do débito cardíaco) ou diminuição por um determinado período de tempo, já que os rins possuem um mecanismo autorregulatório. Por outro lado, durante o exercício físico no calor o fluxo sanguíneo cerebral pode ser reduzido em aproximadamente 20% sem alteração na captação de glicose e oxigênio. E sua redução pode diminuir a remoção do calor e conseqüentemente, aumentar o calor acumulado (NYBO *et al.*, 2002). Além disso, o exercício físico aumenta o metabolismo corporal e, conseqüentemente, a temperatura do corpo e a do sangue arterial (NYBO *et al.*,

2002), as quais podem afetar diretamente a temperatura do cérebro. Hardy (1961) demonstrou que, durante o exercício realizado em ambiente termoneutro, a temperatura do sangue arterial aumentou, levando ao aumento da temperatura do hipotálamo.

A variabilidade e a sensibilidade da resposta da temperatura em várias estruturas cerebrais diferem em relação a outras partes do corpo, tanto na condição de repouso ou após estímulos. Randall *et al.* (1963) verificaram que a temperatura do hipotálamo anterior é menor e responde mais rápido, ao mesmo estímulo, quando comparada à temperatura do hipotálamo posterior. Além disso, a temperatura cerebral em ratos se eleva antes e por um período de tempo maior do que a temperatura do sangue arterial em resposta a diferentes mudanças ambientais, desde um estímulo sonoro ao pinçamento da cauda do rato, presença de uma fêmea e a mudança de gaiola. Neste mesmo estudo, a temperatura cerebral aumentou entre 7 - 14 segundos, enquanto a temperatura do sangue arterial aumentou entre 20 - 40 segundos, em resposta ao mesmo estímulo. Katz *et al.* (2009) demonstraram que a temperatura cerebral aumentou e diminuiu mais rapidamente durante o aquecimento e resfriamento passivo, respectivamente, quando comparada à temperatura medida na cavidade peritoneal. Tem sido sugerido que a temperatura cerebral responde mais rapidamente em função do elevado metabolismo neural, que corresponde a aproximadamente 20% do consumo de oxigênio total do organismo (KIYATKIN *et al.*, 2002).

A temperatura interna medida na cavidade abdominal não é diferente ou ligeiramente menor que a temperatura de áreas ventrais do cérebro, as quais são maiores comparadas a áreas cerebrais dorsais (KIYATKIN, 2007). Kiyatkin (2002) verificou que a temperatura em áreas cerebrais como no núcleo estriado, no núcleo accumbens e no cerebelo são maiores e aumentam mais rapidamente que a temperatura arterial. Estruturas cerebrais localizadas dorsalmente, como o hipocampo e o tálamo dorsomedial apresentam valores de temperaturas menores do que áreas ventrais como o núcleo accumbens, a área tegmentar ventral e o hipotálamo. Portanto, embora os mecanismos envolvidos no aumento mais rápido da temperatura cerebral durante o exercício realizado no ambiente termoneutro, ainda não sejam claros, especula-se que o maior metabolismo cerebral comparado a

outros órgãos do corpo explique esta diferença. Durante o exercício a 12°C, a temperatura hipotalâmica não foi diferente da temperatura abdominal. Embora a velocidade de aumento da temperatura cerebral seja influenciada pelo metabolismo cerebral, o gradiente de temperatura entre o sangue na circulação cutânea e o ambiente favorece a perda de calor por convecção. No presente estudo, a perda convectiva provavelmente compensou o metabolismo cerebral aumentado e, assim, a temperatura hipotalâmica permaneceu inalterada durante o exercício no frio.

Como esperado, quando os ratos exercitaram no ambiente termoneutro, foi encontrada uma correlação negativa e significativa entre a taxa de elevação da temperatura no VMH e o tempo total de exercício (GRAF. 4A). Por outro lado, durante o exercício a 12°C, não foi observada correlação significativa entre essas duas variáveis (GRAF. 4B). Esses dados mostram que o protocolo experimental do presente estudo permitiu retirar o efeito do aumento da temperatura cerebral sobre o desempenho físico. Além disso, o tempo total de exercício foi duas vezes maior quando os animais se exercitaram no ambiente de 12°C (sem alteração da temperatura no VMH) quando comparado ao ambiente termoneutro (25°C; GRAF. 1). Os resultados dos testes de esforço progressivo mostraram que a intensidade relativa de exercício com velocidade constante no ambiente termoneutro representou 77% da velocidade máxima atingida pelos animais. Entretanto, durante o *clamp* da temperatura no VMH, o exercício com velocidade constante de 20 m•min⁻¹ representou 65% da velocidade máxima. Portanto, a intensidade relativa durante o exercício a 12°C foi menor em comparação à situação termoneutro e esta diferença é uma das razões para o maior desempenho em ambiente frio.

No presente estudo, a temperatura ambiente também influenciou a velocidade máxima alcançada durante o exercício com aumentos progressivos da velocidade até a IVE. A velocidade máxima atingida na temperatura ambiente de 12°C foi maior quando comparado a 25°C (GRAF. 11). Além disso, a temperatura abdominal também permaneceu inalterada durante o exercício progressivo (GRAF. 12).

Sabe-se que a temperatura ambiente, na qual o exercício físico é realizado, interfere no desempenho e que este está associado ao aumento da temperatura cerebral

(CAPUTA *et al.*, 1986). Como encontrado no presente estudo, Parkin *et al.* (1999) verificaram que o desempenho durante o exercício físico realizado no ambiente frio (3°C) foi maior em comparação ao exercício realizado em ambiente termoneutro (20°C) e quente (40°C). Galloway e Maughan (1997) analisaram quatro temperaturas ambientes, 4, 11, 21 e 31°C. O tempo total de exercício na temperatura ambiente de 11°C foi maior quando comparado às demais situações experimentais. Este resultado indica que há uma determinada temperatura ambiente para alcançar um maior desempenho, para uma dada intensidade de exercício. De fato a temperatura da pele é considerada um indicador térmico da intensidade de exercício. O resfriamento da pele pode diminuir a percepção subjetiva do esforço para uma dada intensidade do exercício, a qual está associada à sensação térmica e conforto térmico (SCHLADER *et al.*, 2010c; 2011). Schlader *et al.* (2011) mostraram que o resfriamento da pele resultou em menor percepção subjetiva do esforço e maior desempenho. O gradiente maior entre a temperatura da pele e o ambiente facilita a perda de calor. Dessa forma, uma quantidade menor de sangue é direcionada para a pele resultando em menor esforço cardiovascular e termorregulatório durante o exercício no frio quando comparado ao ambiente termoneutro. Além disso, a menor temperatura da pele juntamente com a manutenção da temperatura interna durante o período de exercício pode diminuir a percepção subjetiva do esforço e resultar em maior desempenho.

A taxa de elevação da temperatura no VMH correlacionou-se negativa e significativamente com o TTE realizado no ambiente termoneutro. No entanto, não foi encontrada associação significativa entre a taxa de elevação da temperatura abdominal e TTE nesta temperatura ambiente (25°C). Caputa *et al.* (1986) mostraram que o exercício foi realizado durante 60 min com a temperatura do tronco mantida em 43°C, entretanto, quando a temperatura hipotalâmica foi mantida em valores menores (42°C) os animais interromperam o exercício. Portanto, sugere-se que a temperatura do cérebro é uma medida mais precisa e determinante na interrupção voluntária do esforço.

O aumento da temperatura cerebral (FULLER *et al.*, 1998; WALTERS *et al.*, 2000) e uma maior taxa de acúmulo de calor (RODRIGUES *et al.*, 2003) são considerados

fatores limitantes para o desempenho físico durante o exercício prolongado. Fuller *et al.* (1998) demonstraram que, independente dos valores iniciais da temperatura hipotalâmica, os ratos interromperam o exercício com valores próximos a 40°C, sugerindo a existência de uma temperatura interna crítica limitante para a continuidade do esforço. Entretanto, Rodrigues *et al.* (2003) testaram duas intensidades de exercício (21 e 24 m•min⁻¹), em três temperaturas ambientes (18, 23 e 29°C), e verificaram que os animais interromperam o exercício com valores de temperatura abdominal diferentes; por exemplo, a 29°C, os ratos apresentavam maiores temperaturas abdominais ao final da corrida a 21 m•min⁻¹ do que a 24 m•min⁻¹. Em vez do valor da temperatura abdominal final, a taxa de aumento dessa temperatura foi a variável que melhor correlacionou-se ao desempenho físico; foi encontrada uma correlação negativa entre a taxa de acúmulo de calor e tempo total de exercício. Além disso, conforme esperado, foi encontrado também que quanto maior a temperatura ambiente e maior a intensidade de exercício, menor foi o desempenho.

Tem sido proposto que o aumento da temperatura cerebral induz uma diminuição do *drive* central para a manutenção do exercício físico prolongado, antecipando a IVE (NYBO e NIELSEN, 2001) e protegendo o cérebro de danos térmicos (CAPUTA *et al.*, 1986). Cheung e Sleivert (2004) propuseram um modelo, no qual a elevação da temperatura cerebral pode diretamente induzir a IVE, por aumentar a percepção do esforço e reduzir a motivação para o mesmo, resultando em diminuição do recrutamento muscular. Este modelo corrobora a ideia de que a temperatura cerebral é um fator que afeta a atividade motora (NIELSEN; NYBO 2003). Nybo e Nielsen (2001) submetem indivíduos a 60 minutos de exercício em cicloergômetro, em temperatura ambiente de 40 ou 18°C, o que resultou em temperaturas internas, ao final do exercício, de 40 e 38°C, respectivamente. Ao realizarem 2 minutos de exercício isométrico de preensão manual, após o término do exercício na bicicleta, o percentual da contração voluntária máxima realizada pelos indivíduos foi menor quando os mesmos apresentavam temperatura interna de 40°C em relação à situação controle. Como a temperatura interna de 40°C não modificou o valor da contração voluntária máxima, esses resultados sugerem que a hipertermia diminua o recrutamento neuromuscular.

A dificuldade em manter o exercício físico devido ao aumento da temperatura interna também está relacionada a uma maior percepção subjetiva do esforço (NIELSEN *et al.*, 2001). Nybo e Nielsen (2001) investigaram se a percepção subjetiva do esforço correlaciona-se com as alterações na atividade cerebral e/ou muscular. Foi observado que, na situação hipertermia (40°C) induzida pelo exercício, a atividade no córtex pré-frontal esteve associada à percepção do esforço, ao contrário dos parâmetros eletromiográficos. Estes resultados sugerem que as alterações na atividade do córtex pré-frontal podem contribuir com os mecanismos, pelos quais a hipertermia afeta a capacidade de sustentar a atividade motora durante o exercício prolongado no calor.

Nielsen *et al.* (2001) verificaram que o aumento da temperatura esofagiana induziu mudanças na atividade eletroencefalográfica, durante o exercício físico no calor. Durante a transição do repouso para o exercício, ocorreu aumento no espectro α das ondas cerebrais no córtex frontal, tanto durante o exercício no ambiente quente (42°C) quanto no frio (19°C), indicando aumento da motivação para a realização do esforço. Entretanto, ao longo do exercício no calor, foi encontrada uma diminuição do espectro β de alta frequência (13 – 30 Hz) e manutenção do espectro α de baixa frequência (8 – 12 Hz) que determinou um aumento da razão α/β em associação com o aumento progressivo da temperatura corporal até a IVE, que ocorreu com valores próximos de 40°C. Esta razão α/β é normalmente utilizada como índice do nível de vigília, no qual uma maior razão α/β representa menor estado de vigília e conseqüentemente, menor motivação para a manutenção do esforço. Por outro lado, quando o exercício foi realizado na temperatura ambiente de 19°C, o espectro β não diminuiu ao longo do exercício e a temperatura esofagiana estabilizou em aproximadamente 38°C. Estes resultados indicam que essas alterações na atividade do córtex frontal refletem mudanças em áreas cerebrais envolvidas com a diminuição da capacidade de manter o exercício físico devido ao aumento acentuado da temperatura interna.

Em resumo, o *clamp* da temperatura hipotalâmica foi alcançado por meio da manutenção do equilíbrio térmico entre o calor dissipado durante o exercício realizado no ambiente frio e o calor produzido pelo cérebro e músculos ativos. Portanto, a temperatura hipotalâmica em ratos permaneceu inalterada do início até o

final do exercício físico realizado na velocidade de $20 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$ e inclinação de 5%, com a temperatura no interior da esteira mantida em 12°C .

O desempenho físico durante o exercício que induziu o *clamp* da temperatura no núcleo ventromedial do hipotálamo (temperatura ambiente de 12°C) foi duas vezes maior quando comparado ao exercício realizado no ambiente termoneutro. A temperatura ambiente fria permitiu que a intensidade relativa de exercício representasse um percentual de esforço menor quando comparado ao exercício no ambiente termoneutro. Além disso, a velocidade máxima alcançada foi maior durante o exercício progressivo realizado no ambiente de 12°C quando comparado ao ambiente termoneutro. A temperatura abdominal inicial não foi diferente da temperatura na interrupção voluntária do esforço durante o teste progressivo. Sugere-se que, a temperatura da pele seja um indicador térmico da intensidade de exercício. De forma que, a menor temperatura da pele juntamente com a manutenção da temperatura interna possa diminuir a percepção subjetiva do esforço e aumentar o desempenho.

Foi demonstrado um aumento mais rápido da temperatura no núcleo ventromedial do hipotálamo quando comparado à temperatura abdominal durante o exercício com velocidade constante realizado no ambiente termoneutro. Sugere-se que a resposta mais rápida da temperatura no núcleo ventromedial do hipotálamo possa ser devido ao maior metabolismo do tecido cerebral quando comparado aos demais tecidos corporais e/ou redistribuição do débito cardíaco nos minutos iniciais de exercício. A associação negativa e significativa entre a taxa de elevação da temperatura no núcleo ventromedial do hipotálamo e tempo total de exercício sugere que a temperatura cerebral é uma medida mais precisa e determinante na interrupção voluntária do esforço.

5 CONCLUSÃO

A temperatura hipotalâmica em ratos permaneceu inalterada do início até o final do exercício físico realizado na velocidade de $20 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$ e inclinação de 5%, com a temperatura no interior da esteira mantida em 12°C . Portanto, a interrupção voluntária do esforço ocorreu por outros fatores e não por aumento da temperatura hipotalâmica e resultou em maior desempenho.

REFERÊNCIAS

ABRAMS, R.; HAMMEL, H. T. Hypothalamic temperature in unanesthetized albino rats during feeding and sleeping. **American Journal of Physiology**, v. 206, n. 3, p. 641-646, 1964.

CAPUTA, M.; FEISTKORN, G.; JESSEN, C. Competition for cool nasal blood between trunk and brain in hyperthermic goats. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 85A, n. 3, p. 423-427, 1986.

CAPUTA, M.; FEISTKORN, G.; JESSEN, C. Effects of brain and trunk temperatures on exercise performance in goats. **Pflügers Archiv: European Journal of Physiology**, v. 406, p. 184-189, 1986.

CAPUTA, M.; KAMARI, A.; WACHULEC, M. Selective brain cooling in rats resting in heat and during exercise. **Journal of Thermal Biology**, v. 16, n. 1, p. 19-24, 1991.

CHEUNG, S. S.; SLEIVERT, G. G. Multiple triggers for hyperthermic fatigue and exhaustion. **Exercise and Sport Sciences Reviews**, v. 32, n.3, p. 100-106, 2004.

FULLER, A. *et al.* Brain and abdominal temperatures at fatigue in rats exercising in the heat. **Journal of Applied Physiology**, v. 84, n. 3, p. 877-883, 1998.

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

GORDON, C. J. Thermal biology of the laboratory rat. **Physiology and Behavior**, v. 47, n. 5, p. 963-991, 1990.

GUIMARÃES, J. B. *et al.* Fatigue is mediated by cholinceptors within the ventromedial hypothalamus independent of changes in core temperature. **Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports**, 2011 *in press*.

HARDY, J. D. **Physiology of temperature regulation**, v. 41, p. 521-606, 1961.

HO, C. W. *et al.* Age, fitness, and regional blood flow during exercise in the heat. **Journal of Applied Physiology**, v. 82, p. 1126-1135, 1997.

HODGSON, D. R.; DAVIS, R. E.; McCONAGHY, F. F. Thermoregulation in the horse in response to exercise. **British veterinary Journal**, v. 150, n. 3, p. 219-235, 1994.

KATZ, L. M. *et al.* Independence of brain and trunk temperature during hypothermic preconditioning in rats. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 179, p. 179-183, 2009.

KIYATKIN, E. A. Brain temperature fluctuations during physiological and pathological conditions. **European Journal of Applied Physiology**, v. 101, p. 3-17, 2007.

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

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

KIYATKIN, E. A.; WISE, R. A. Brain and body hyperthermia associated with heroin self-administration in rats. **The Journal of Neuroscience**, v. 22, n. 3, p. 1072-1080, 2002.

LAUGHLIN, S. B. *et al.* The metabolic cost of neural information. **Nature Neuroscience**, v. 1, n. 1, p. 36-41, 1998.

LIMA, N. R. V. *et al.* Effect of intracerebroventricular injection of atropine on metabolic responses during exercise in untrained rats. **Physiology and Behavior**, v. 64, n. 1, p. 69-74, 1998.

LIMA, N. R. V. *et al.* Prolactin release during exercise in normal and adrenalectomized untrained rats submitted to central cholinergic blockade with atropine. **Hormones and Behavior**, v. 40, n. 4, p. 526-532, 2001.

MÄKINEN, T. *et al.* Energy cost and thermoregulation of unrestrained rats during exercise in the cold. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 114A, n. 1, p. 57-63, 1996.

McCONAGHY, F. F. *et al.* Selective brain cooling in the horse during exercise and environmental heat stress. **Journal of Applied Physiology**, v. 79, n. 6, p 1849-1854, 1995.

MIKI, K.; KOSHO, A.; HAYASHIDA, Y. Method for continuous measurements of renal sympathetic nerve activity and cardiovascular function during exercise in rats. **Experimental Physiology**, v. 87, n. 1, p. 33-39, 2001.

MONDA, M. *et al.* Hyperthermic reactions induced by orexin A: role of the ventromedial hypothalamus. **European Journal of Neuroscience**, v. 22, p. 1169-1175, 2005.

NAGASHIMA, K. Neuronal circuitries involved in thermoregulation. **Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical**, v. 85, p. 18-25, 2000.

NAKAMURA, K.; MORRISON, S. F. A thermosensory pathway that controls body temperature. **Nature Neuroscience**, v. 11, n. 1, p. 62-71, 2008b.

NIELSEN, B. *et al.* Brain activity and fatigue during prolonged exercise in the heat. **Pflügers Archiv: European Journal of Physiology**, v. 442, p. 41-48, 2001.

NIELSEN, B.; NYBO, L. Cerebral changes during exercise in the heat. **Sports Medicine**, v. 33, n. 1, p. 1-11, 2003.

NYBO, L. *et al.* Effects of hyperthermia on cerebral blood flow and metabolism during prolonged exercise in humans. **Journal of Applied Physiology**, v. 93, p. 58-64, 2002.

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

NYBO, L.; NIELSEN, B. Perceived exertion is associated with an altered brain activity during exercise with progressive hyperthermia. **Journal of Applied Physiology**, v. 91, p. 2017-2023, 2001.

NYBO, L. *et al.* Effects of hyperthermia on cerebral blood flow and metabolism during prolonged exercise in humans. **Journal of Applied Physiology**, v. 93, p. 58-64, 2002a.

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

PARKIN, J. M. et al. Effect of ambient temperature on human skeletal muscle metabolism during fatiguing submaximal exercise. **Journal of Applied Physiology**, v. 86. n. 3, p. 902-908, 1999.

PAULSON, O. B. Blood-brain barrier, brain metabolism and cerebral blood flow. **European Neuropsychopharmacology**, v. 12, p. 495-501, 2002.

PAXINOS, G.; WATSON, C. **The rat brain in stereotaxic coordinates** . 6th ed. San Diego: Elsevier, 2007.

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

PRÍMOLA-GOMES, T, N. et al. Activation of the central cholinergic pathway increases post-exercise tail heat loss in rats. **Neuroscience Letters**, v. 1, n. 413, p. 1-5, 2007.

RANDALL, W. C. et al. Central and peripheral factors in dynamic thermoregulation. **Journal of Applied Physiology**, v. 18, n. 1, p. 61-64, 1963.

RODRIGUES, L. O. C.; OLIVEIRA, A.; LIMA, N. R. V.; MACHADO-MOREIRA, C. A. Heat storage rate and acute fatigue in rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 36, p. 131-135, 2003.

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

ROMANOVSKY, A. A. et al. The transient receptor potential vanilloid-1 channel in thermoregulation: A thermosensor it is not. **Pharmacological Reviews**, v. 61, n. 3, p. 228-261, 2009.

ROWELL, L. B. Human cardiovascular adjustments to exercise and thermal stress. **Physiological Reviews**, v. 54, n. 1, p. 75-159, 1974.

SCHLADER, Z. J. *et al.* Skin temperature as a thermal controller of exercise intensity. **European Journal of Applied Physiology**, v. 111, p. 111-163, 2011.

SCHLADER, Z. J.; STANNARD, S. R.; MUNDEL, T. Human thermoregulatory behavior during rest and exercise – a prospective review. **Physiology Behavior**, v. 99, p. 269-275, 2010c.

SHELLOCK, F. G.; RUBIN, S. A. Temperature regulation during treadmill exercise in the rat. **Journal of Applied Physiology: Respiratory, Environment and Exercise Physiology**, v. 57, n.3, p. 1872-1877, 1984.

TUCKER, R. *et al.* The rate of heat storage mediates an anticipatory reduction in exercise intensity during cycling at a fixed rating of perceived exertion. **Journal of Physiology**, v. 574, p. 905-915, 2006.

VISSING, J *et al.* Ventromedial hypothalamic regulation of hormonal and metabolic responses to exercise. **American Journal of Physiology – Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 256, n. 25, p. R1019-R1026, 1989.

YOSHIDA, K.; LI, X.; CANO, G.; LAZARUS, M.; SAPER, C. B. Parallel preoptic pathways for thermoregulation. **Journal of Neuroscience**, v. 29, p. 11954-11964, 2009.

YOUNG, A. J.; CASTELLANI, J. W. Exertion-induced fatigue and thermoregulation in the cold. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part A. v. 128, p. 769-776, 2001.

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

WANNER, S. P. *et al.* Muscarinic cholinceptors in the ventromedial hypothalamic nucleus facilitate tail heat loss during physical exercise. **Brain Research Bulletin**, v. 73, n. 1-3, p. 28-33, 2007.

WANNER, S. P. *et al.* Physical exercise-induced cardiovascular adjustments are modulated by muscarinic cholinceptors within the ventromedial hypothalamic nucleus. **Physiological Research**, v. 59, n. 2, p. 165-175, 2010.

WANNER, S. P. *et al.* Muscarinic receptors within the ventromedial hypothalamic nuclei modulate metabolic rate during physical exercise. **Neuroscience Letters**, v. 488, n. 2, p. 210-214, 2011.

ANEXO 1 - CETEA



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COMITÊ DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL
- C E T E A -

CERTIFICADO

Certificamos que o **Protocolo nº 278/2010**, relativo ao projeto intitulado "**Efeito da temperatura ambiente e do exercício físico sobre a temperatura cerebral de ratos durante o exercício até a fadiga**", que tem como responsável(is) **Nilo Resende Viana Lima**, está(ão) de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal, adotados pelo **Comitê de Ética em Experimentação Animal (CETEA/UFMG)**, tendo sido aprovado na reunião de **23/ 02/2011**.

Este certificado expira-se em **23/ 02/ 2016**.

CERTIFICATE

We hereby certify that the **Protocol nº 278/2010**, related to the project entitled "**Effect of temperature and exercise on the brain temperature of rats during exercise to fatigue**", under the supervisors of **Nilo Resende Viana Lima**, is in agreement with the Ethical Principles in Animal Experimentation, adopted by the **Ethics Committee in Animal Experimentation (CETEA/UFMG)**, and was approved in **February 23, 2011**.

This certificate expires in **February 23, 2016**.

Belo Horizonte, 25 de Março de 2011.

Profª. Jacqueline Isaura Alvarez-Leite
Coordenadora do CETEA/UFMG

Universidade Federal de Minas Gerais
Avenida Antônio Carlos, 6627 -- Campus Pampulha
Unidade Administrativa II -- 2º Andar, Sala 2005
31270-901 - Belo Horizonte, MG - Brasil
Telefone: (31) 3499-4516
www.ufmg.br/bioetica/cetea - cetea@proq.ufmg.br