

WASHINGTON PIRES

**O DESEMPENHO FÍSICO EM AMBIENTES TEMPERADO E  
QUENTE É DIMINUÍDO PELA AUSÊNCIA DAS AFERÊNCIAS  
PROVENIENTES DOS BARORRECEPTORES ARTERIAIS**

Belo Horizonte

2012

WASHINGTON PIRES

**O DESEMPENHO FÍSICO EM AMBIENTES TEMPERADO E  
QUENTE É DIMINUÍDO PELA AUSÊNCIA DAS AFERÊNCIAS  
PROVENIENTES DOS BARORRECEPTORES ARTERIAIS**

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

Área de concentração: Fisiologia do Esporte

Orientador: Dr. Nilo Resende Viana Lima

BELO HORIZONTE  
2012



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**  
Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional.  
Programa de Pós-Graduação em Ciências do Esporte

## ATA DA DEFESA DE TESE DE DOUTORADO DE WASHINGTON PIRES

Às **13:30 horas** do dia **02 de outubro de 2012**, reuniu-se na Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional da UFMG a Comissão Examinadora para a Defesa de Tese de Doutorado, indicada pelo Colegiado do Programa para julgar, o trabalho intitulado **“O desempenho durante o exercício físico realizado em ambientes termoneutro e quente depende do barorreflexo arterial”**, requisito final para a obtenção do Grau de Doutor em Ciências do Esporte. Abrindo a sessão, o Presidente da Comissão, Profa. Dra. Danusa Dias Soares, após dar a conhecer aos presentes o teor das Normas Regulamentares do Trabalho Final, passou a palavra para o (a) candidato (a), para apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos examinadores, com a respectiva defesa do (a) candidato (a). Logo após, a Comissão se reuniu, sem a presença do (a) candidato (a) e do público, para julgamento e expedição do resultado final. Foram atribuídas as seguintes indicações:

<b>Membros da Banca Examinadora</b>	<b>Aprovado</b>	<b>Reprovado</b>
<b>Prof. Dr. Nilo Resende Viana Lima (orientador)</b>	X	
<b>Prof. Dr. Thales Nicolau Prímola Gomes (UFV)</b>	X	
<b>Prof. Dr. Marco Antônio Peliky Fontes (ICB-UFMG)</b>	X	
<b>Profa. Dra. Danusa Dias Soares (EEFFTO – UFMG)</b>	X	
<b>Prof. Dr. Luiz Oswaldo Carneiro Rodrigues (EEFFTO-UFMG)</b>	X	

Após as indicações o candidato (a) foi considerado (a): aprovado

O **resultado final** foi comunicado publicamente para o (a) candidato (a) pelo Presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar o Presidente encerrou a reunião e lavrou a presente **ATA**, que será assinada por todos os membros participantes da Comissão Examinadora. Belo Horizonte, 02 de outubro de 2012.

Prof. Dr. Nilo Resende Viana Lima (Orientador) \_\_\_\_\_

Prof. Dr. Luiz Oswaldo Carneiro Rodrigues – EEFFTO-UFMG \_\_\_\_\_

Profa. Dra. Danusa Dias Soares - EEFFTO-UFMG \_\_\_\_\_

Prof. Dr. Marco Antônio Peliky Fontes - ICB-UFMG \_\_\_\_\_

Prof. Dr. Thales Nicolau Prímola Gomes (UFV) \_\_\_\_\_

P667d Pires, Washington  
2012

O desempenho físico em ambientes temperado e quente é diminuído pela ausência das aferências provenientes dos barorreceptores arteriais. [manuscrito] / Washington Pires. – 2012.

87 f., enc.:il.

Orientador: Nilo Resende Viana Lima

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional.

Bibliografia: f. 75-80

1. Fadiga - Teses. 2. Pressão arterial – Teses. 3. Corpo - Temperatura- Teses. 4. Esteira rolante - Teses. 5. Calor - Teses. I. Lima, Nilo Resende Viana. II. . Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional. III. Título.

CDU:612: 796

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

## AGRADECIMENTOS

À população brasileira, pelo investimento na minha formação acadêmica desde a iniciação científica ao doutorado.

Aos meus pais, Luciano e Inês pela dedicação, apoio e carinho durante toda a minha vida.

Ao Dr. Nilo Resende Viana Lima, que aqui parabenizo por ter como o objetivo principal da sua carreira a formação de seus alunos. Sinto-me muito feliz por ter sido orientado pelo Prof. Nilo desde a iniciação científica ao doutorado. Sempre declaro com orgulho que o Prof. Nilo é minha referência. Tentei eleger o conhecimento mais importante que aprendi com o Prof. Nilo em dez anos de convivência, e conclui que a dedicação e o respeito com o aluno foi a principal lição que aprendi.

Ao meu amigo, Dr. Samuel Penna Wanner, quem dedicou boa parte do seu tempo à minha formação. Sem dúvidas, eu fui um dos alunos que o Samuel mais se dedicou a ensinar seus conhecimentos. Para ilustrar isso, me recordo que o Samuel me ensinou a plotar meu primeiro gráfico durante a iniciação científica e a corrigiu os gráficos do nosso último artigo publicado.

Às minhas amigas, Milene Malheiros e Ivana Fonseca, pela ajuda decisiva na realização deste trabalho e pela excelente companhia durante o todo doutorado.

Ao Ubirajara Fumega, pela amizade e por realizar toda a programação computacional da análise da variabilidade da pressão arterial realizada no presente estudo.

Ao Gilvan Ferreira Vaz, que o foi o aluno de iniciação científica vinculado a este projeto, pela dedicação ao laboratório e ao estudo.

Ao Prof. Dr. Luiz Oswaldo Carneiro Rodrigues, quem agradeço lembrando o seguinte: fui aluno do Prof. LOR na disciplina de introdução à pesquisa, e em uma das aulas toda a turma decidiu não assistir a mesma eu fui sozinho. O prof. LOR me falou que daria a aula assim mesmo que esta seria no Laboratório de Fisiologia do Exercício. Ele me mostrou todo o laboratório e tudo que era realizado ali. Foi aí que comecei a freqüentar o laboratório.

Ao Prof. Dr. Cândido Celso Coimbra, pelo incentivo a seguir a carreira acadêmica e pelo acesso irrestrito ao Laboratório de Endocrinologia e Metabolismo do ICB.

À Dra. Danusa Dias Soares, pela dedicação ao laboratório e pela amizade com seus alunos.

À Dra. Andréa Siqueira Haibara, pelas contribuições na discussão do estudo.

Aos meus amigos do LAFISE, Roberta Borges, Juliana Guimarães, Luiz, William, Cletiana, Ana Cançado, Ana Cláudia, Patrícia Rocha, Carolina, Débora e Michele Macedo, pela convivência.

## RESUMO

No presente estudo, nós investigamos se o desempenho físico nos ambientes temperado e quente foi dependente dos barorreceptores arteriais. Ratos Wistar foram submetidos à desnervação sino-aórtica (DSA) ou cirurgia fictícia (CON). Após a recuperação, os ratos foram submetidos ao exercício com velocidade constante (18m/min) ou exercício com aumentos progressivos da velocidade (iniciando com uma velocidade de 10 m/min, com incrementos de 1 m/min a cada 2 min até a fadiga) em ambiente temperado (25°C) e quente (35°C). Nesses experimentos, os animais DSA e CON foram submetidos ao implante de cateter na aorta ascendente, e de um sensor de temperatura na cavidade peritoneal. Após dois dias, as respostas termorregulatórias e cardiovasculares foram medidas. Durante o exercício com velocidade constante, a DSA reduziu o tempo de exercício até a fadiga no ambiente temperado ( $29 \pm 3$  min vs  $66 \pm 11$  min,  $P < 0,01$ ;  $n = 8$ ) e no calor ( $14 \pm 1$  min vs  $23 \pm 2$  min,  $P < 0,001$ ;  $n = 8$ ). O desempenho de corrida também foi afetado pela DSA durante o exercício progressivo, sendo a velocidade máxima significativamente diminuída ( $p < 0,01$ ). Ao longo do exercício com velocidade constante, o aumento da pressão arterial foi maior nos ratos desnervados quando comparados aos ratos CON (temperado:  $141 \pm 3$  mmHg vs,  $123 \pm 2$  mmHg  $P < 0,001$ ,  $n = 8$ ; calor:  $174 \pm 13$  mmHg vs  $134 \pm 5$  mmHg,  $P < 0,02$ ,  $n = 8$ ), entretanto as respostas termorregulatórias não foram diferentes entre os dois grupos. A DSA resultou também em aumento da densidade espectral do componente de muito baixa frequência da pressão arterial sistólica durante o exercício (temperado:  $20,3 \pm 4,1$  mmHg<sup>2</sup> vs,  $2,7 \pm 0,4$  mmHg<sup>2</sup>  $P < 0,05$ ,  $n = 6$ ; calor:  $26,9 \pm 6,2$  mmHg<sup>2</sup> vs  $5,9 \pm 0,8$  mmHg<sup>2</sup>,  $P < 0,05$ ,  $n = 6$ ). Além disso, a frequência cardíaca máxima no final do teste de esforço progressivo foi maior nos ratos DSA (temperado:  $593 \pm 5$  bpm vs,  $533 \pm 13$  bpm  $P < 0,05$ ,  $n = 5$ ; calor:  $639 \pm 6$  bpm vs  $553 \pm 19$  bpm,  $P < 0,05$ ,  $n=5$ ). Assim, a ausência crônica dos barorreceptores arteriais antecipa a fadiga nos ambientes temperado e quente. Nós sugerimos que o aumento do esforço cardiovascular contribuiu para a antecipação da interrupção do exercício nos ratos DSA.

**Palavras-chave:** Barorreceptores, fadiga, variabilidade da pressão arterial, dissipação de calor cutânea, temperatura, esteira

## ABSTRACT

In the present study, we investigated whether running performance in temperate or warm environments was dependent on intact arterial baroreceptors reflexes. Wistar rats were submitted to either a sinoaortic denervation (SAD) or sham surgery (SHAM) and submitted to both constant intensity (18m/min) and incremental treadmill exercises (starting at a velocity of 10 m/min, with increments of 1 m/min every 2 min until the rats were fatigued) in both temperate (25°C) and hot (35°C) conditions. In these experiments, SAD and SHAM animals had a catheter implanted into the ascending aorta, and a temperature sensor implanted into the peritoneal cavity. Two days following these procedures, cardiovascular and thermoregulatory responses were evaluated. During constant-speed exercise, total exercise time until the rats were fatigued was reduced by SAD in both temperate ( $29 \pm 3$  min vs  $66 \pm 11$  min,  $P < 0.01$ ;  $n=8$ ) and hot condition ( $14 \pm 1$  min vs  $23 \pm 2$  min,  $P < 0.001$ ;  $n = 8$ ). Running performance was also affected by SAD during incremental-speed exercise, with maximal speed being significantly reduced ( $p < 0.01$ ). During constant-speed exercise, denervated rats displayed a higher increase in blood pressure when compared to SHAM rats (temperate:  $141 \pm 3$  mmHg vs,  $123 \pm 2$  mmHg  $P < 0.001$ ,  $n=8$ ; hot:  $174 \pm 13$  mmHg vs  $134 \pm 5$  mmHg,  $P < 0.02$ ,  $n=8$ ), but the thermoregulatory responses were not significantly different between the groups. SAD also induced an increase in the spectral power density of the very low oscillations of arterial systolic pressure during exercise (temperate:  $20.3 \pm 4.1$  mmHg<sup>2</sup> vs,  $2.7 \pm 0.4$  mmHg<sup>2</sup>  $P < 0.05$ ,  $n = 6$ ; calor:  $26.9 \pm 6.2$  mmHg<sup>2</sup> vs  $5.9 \pm 0.8$  mmHg<sup>2</sup>,  $P < 0.05$ ,  $n = 6$ ). Furthermore, the heart rate values at the end of incremental exercise test were exacerbated by SAD (temperate:  $593 \pm 5$  bpm vs,  $533 \pm 13$  bpm  $P < 0.05$ ,  $n=5$ ; hot:  $639 \pm 6$  bpm vs  $553 \pm 19$  bpm,  $P < 0.05$ ,  $n=5$ ) Thus, chronic absence of arterial baroafferents anticipates exercise fatigue in temperate and warm environments. We suggested that an augmented cardiovascular strain has accounted the early interruption of the exercise SAD rats.

**Keywords:** Baroreceptor, fatigue, blood pressure variability, cutaneous heat loss, temperature, treadmill

## LISTA DE FIGURAS

<b>FIGURA 1.</b> Modelo dos riscos e benefícios.....	16
<b>FIGURA 2.</b> Modelo simplificado de descargas colaterais de percepção do esforço. 17	
<b>FIGURA 3.</b> Ilustração esquemática do modelo de inibição reflexa supraespinal do desempenho físico proposto por Amann et al. (2008).....	18
<b>FIGURA 4.</b> Circuitos neurais envolvidos na geração do comando central cardiovascular..	19
<b>FIGURA 5.</b> Desenho esquemático mostrando a localização anatômica dos barorreceptores arteriais. ....	20
<b>FIGURA 6.</b> Sensibilidade barorreflexa à injeção intravenosa de um agonista alfa-adrenérgico (fenilefrina)..	21
<b>FIGURA 7.</b> Desenho esquemático mostrando a integração barorreflexa durante o repouso. ....	22
<b>FIGURA 8.</b> Alterações na pressão arterial e na frequência cardíaca induzidas pelo exercício e pela injeção de fenilefrina..	22
<b>FIGURA 9.</b> Desenho esquemático mostrando a integração barorreflexa durante o exercício.....	23
<b>FIGURA 10.</b> Tolerância ao aumento da temperatura corporal interna durante o exercício físico no calor e o fluxo sanguíneo na pele associado com a temperatura da pele..	24
<b>FIGURA 11.</b> Desenho esquemático mostrando a hipótese do estudo.....	26
<b>FIGURA 12.</b> Cronologia dos procedimentos experimentais realizados no experimento 1 e 2.....	29
<b>FIGURA 13.</b> Cronologia dos procedimentos experimentais realizados no experimento 3.....	29
<b>FIGURA 14.</b> Diagrama esquemático mostrando a localização e as secções dos nervos durante a cirurgia de desnervação sino-aórtica.....	31
<b>FIGURA 15.</b> Registro da pressão arterial pulsátil (software ACQKNOWLEDGE) de um rato durante o repouso em ambiente temperado. ....	35
<b>FIGURA 16.</b> Pressão arterial em função do número de amostras. ....	36
<b>FIGURA 17.</b> Gráfico dos intervalos entre os picos sistólicos em função do número de amostras (tacograma). ....	36

- FIGURA 18.** Arquivo com formato .txt gerado através do tacograma construído a partir do registro da pressão arterial pulsátil.....37
- FIGURA 19.** Programa CARDIOSERIES versão 1.2. A tela inicial do programa mostra os parâmetros da variabilidade no domínio do tempo.....38
- FIGURA 20.** Programa CARDIOSERIES versão 1.2. Nos painéis numerados de 1 a 6 (à esquerda), estão representados os parâmetros da variabilidade no domínio da frequência em segmentos de 512 pontos (Em amarelo; o trecho analisado é dividido em subtrechos de 512 pontos) .....38
- FIGURA 21.** Efeitos da desnervação sino-aórtica ou cirurgia fictícia na pressão arterial média, na frequência cardíaca, na temperatura da pele da cauda e na temperatura intraperitoneal de ratos durante o repouso em ambiente temperado (25°C) e quente (35°C).....43
- FIGURA 22.** Registros da pressão arterial pulsátil e da frequência cardíaca de dois ratos conscientes submetidos à desnervação sino-aórtica crônica e à cirurgia controle, respectivamente, durante a exposição ao ambiente temperado (25° C) e quente (35°C).....44
- FIGURA 23.** Efeitos da desnervação sino-aórtica ou cirurgia fictícia na densidade espectral da pressão sistólica e da frequência cardíaca durante o repouso. ....44
- FIGURA 24.** Efeitos da desnervação sino-aórtica ou cirurgia fictícia na densidade espectral da pressão arterial sistólica durante o repouso em ambiente temperado e durante o aquecimento passivo.....45
- FIGURA 25.** Efeitos da desnervação sino-aórtica ou cirurgia fictícia sobre o tempo até a fadiga durante o exercício com velocidade constante em ratos.....46
- FIGURA 26.** Perfil temporal das alterações induzidas pelo exercício na pressão arterial média, na frequência cardíaca, na temperatura da pele da cauda e na temperatura intraperitoneal em ratos que foram previamente submetidos à desnervação sino-aórtica ou cirurgia fictícia como controle.. ....48
- FIGURA 27.** Registros da pressão arterial pulsátil e da frequência cardíaca de dois ratos conscientes submetidos à desnervação sino-aórtica crônica e à cirurgia controle, respectivamente, durante o exercício em ambiente temperado (25° C) e quente (35°C).....49
- FIGURA 28.** Efeitos da desnervação sino-aórtica ou cirurgia fictícia na densidade espectral da pressão sistólica e da frequência cardíaca durante o exercício.....49
- FIGURA 29.** Efeitos da desnervação sino-aórtica ou cirurgia fictícia sobre a velocidade máxima de corrida durante um teste com aumentos progressivos da velocidade da esteira. ....51
- FIGURA 30.** Registros representativos da pressão arterial e da frequência cardíaca de dois ratos durante o exercício com aumentos progressivos da velocidade até a

fadiga nos ambientes temperado (25°C) e quente (35°C). Os registros são de ratos que foram previamente submetidos à desnervação sino-aórtica ou cirurgia fictícia .52

**FIGURA 31.** Alterações na pressão arterial sistólica, frequência cardíaca e duplo produto induzidas pelo exercício com velocidade progressiva em ratos que foram previamente submetidos à desnervação sino-aórtica ou cirurgia fictícia.....54

## Sumário

1. INTRODUÇÃO .....	14
1.1 Objetivo .....	27
2. PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS.....	28
2.3.1 Anestesia e cuidados pós-operatórios .....	30
2.3.2 Desnervação sino-aórtica .....	30
2.3.3 Familiarização ao exercício em esteira rolante .....	32
2.3.4 Implante do cateter arterial e do sensor de temperatura .....	32
2.3.5 Implante de cateter no átrio direito.....	33
2.4 Exposição ao calor .....	33
2.5 Corrida com velocidade constante .....	34
2.6 Corrida com aumentos progressivos da velocidade.....	34
2.7 Análise da variabilidade da pressão arterial sistólica e da frequência cardíaca ..	35
2.7.1 Aquisição dos parâmetros cardiovasculares.....	35
2.7.2 Processamento do arquivo de dados cardiovasculares.....	35
2.7.3 Análise da variabilidade cardiovascular no domínio do tempo e no domínio da frequência .....	37
2.8 Medidas e cálculos .....	39
2.9 Eutanásia dos animais .....	40
2.10 Análise estatística .....	40
3. RESULTADOS .....	41
3.1 Efeitos da DSA nos ajustes cardiovasculares e termorregulatórios durante o repouso em ambiente temperado e quente.....	41
3.2 Efeitos da DSA no desempenho físico e nos ajustes cardiovasculares e termorregulatórios durante o exercício com velocidade constante nos ambientes temperado e quente .....	46
3.3 Efeitos da DSA no desempenho físico e nos ajustes cardiovasculares durante o exercício com aumentos progressivos na velocidade nos ambientes temperado e quente .....	50
3.4 Resumo dos resultados principais.....	55
4. DISCUSSÃO .....	56
4.1 Respostas induzidas pelo aquecimento passivo .....	56
4.2 Desempenho físico, respostas cardiovasculares e termorregulatórias durante o exercício com velocidade constante.....	58
4.3 Desempenho físico e respostas cardiovasculares durante o exercício com aumentos progressivos da velocidade .....	59
4.4 Mecanismos de fadiga.....	60
4.5 Limitações .....	63
5. CONCLUSÕES .....	65
REFERÊNCIAS.....	66
APÊNDICE A.....	72
APÊNDICE B.....	76
ANEXO A .....	77

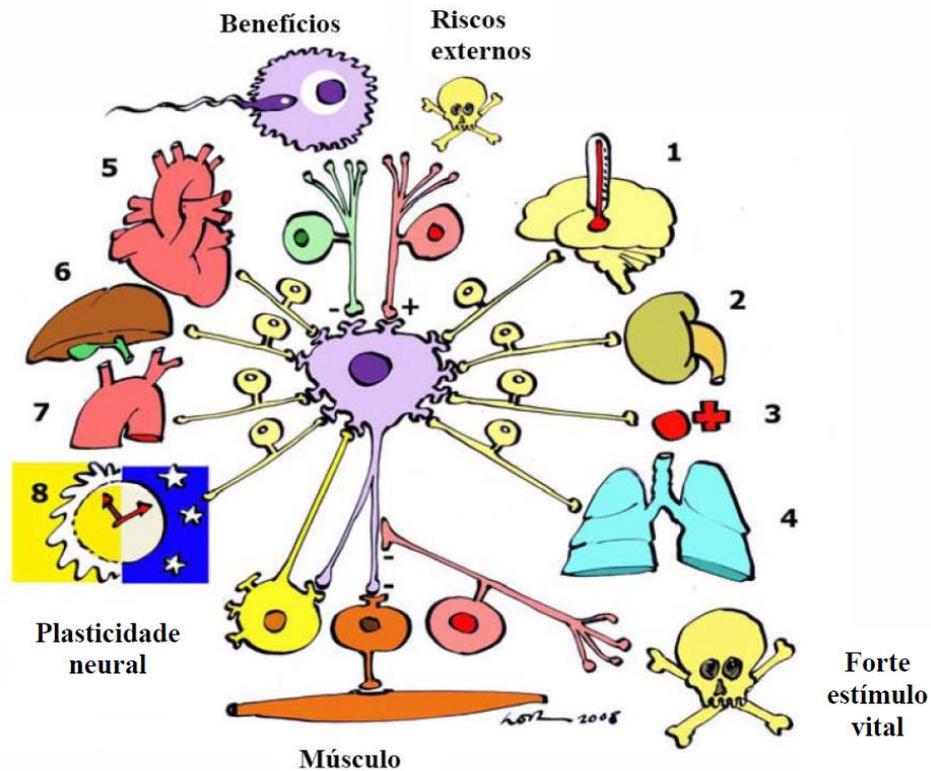
## 1. INTRODUÇÃO

Durante a realização do exercício físico, o aumento da percepção do esforço associada a reduções em sua intensidade ou à sua interrupção é o fenômeno denominado como fadiga aguda. A busca pela explicação dos mecanismos de fadiga data desde as observações de Fletcher e Hopkins (1907) sobre o acúmulo de ácido láctico nos músculos de anfíbios submetidos à contração *in vitro*. A partir de então, várias teorias e modelos para os mecanismos de fadiga vêm sendo propostos. Hill, Long e Lupton (1924), ao verificarem aumento da concentração de ácido láctico nos músculos esqueléticos de humanos, concluíram que os músculos estavam contraindo com suprimento inadequado de oxigênio. Surgiu assim a idéia que a falta de oxigênio nos músculos em contração limita o desempenho físico. Com base nas idéias de Hill, outros estudos buscaram explicar o desempenho máximo a partir da capacidade de atletas em atrasar uma inevitável condição anaeróbia nos músculos em contração (EDWARDS, 1983). Essas interpretações direcionaram a realização de estudos com foco no metabolismo anaeróbico até a década de noventa e também serviram de base para o conceito que a interrupção do esforço é decorrente de uma falha no suprimento de oxigênio, sendo o lactato o sinalizador dessa condição (BANGSBO, 1993).

Baseado na concepção cardiovascular/anaeróbia, Edwards (1983) propôs a teoria da catástrofe, onde a fadiga situa-se entre dois extremos: a utilização completa dos substratos energéticos (*rigor mortis*) de um lado, e a falha do mecanismo de excitação-contração do outro. Outros autores consideraram que um modelo mais adequado de explicação da fadiga deveria conter a relação entre as vias aferentes provenientes dos diversos receptores periféricos, um controlador cerebral e o comando motor para o exercício (NOAKES, 2000). Surgiram assim propostas de modelos nos quais o sistema nervoso central modula o desempenho físico em função das condições intrínsecas e ambientais. Nesse sentido, Noakes *et al.* (2005) propuseram o modelo do Regulador Central, onde a fadiga é uma sensação que resulta da complexa integração das informações aferentes no cérebro. O estímulo periférico, como o acúmulo de metabólitos musculares ou alterações na pressão arterial, modularia dinamicamente o processo de controle

cerebral resultando na alteração das respostas dos sistemas fisiológicos e da atividade motora. Embora aceito, o modelo do regulador central não foi totalmente demonstrado experimentalmente, e existem críticas acerca da falta evidências evolutivas para esse modelo.

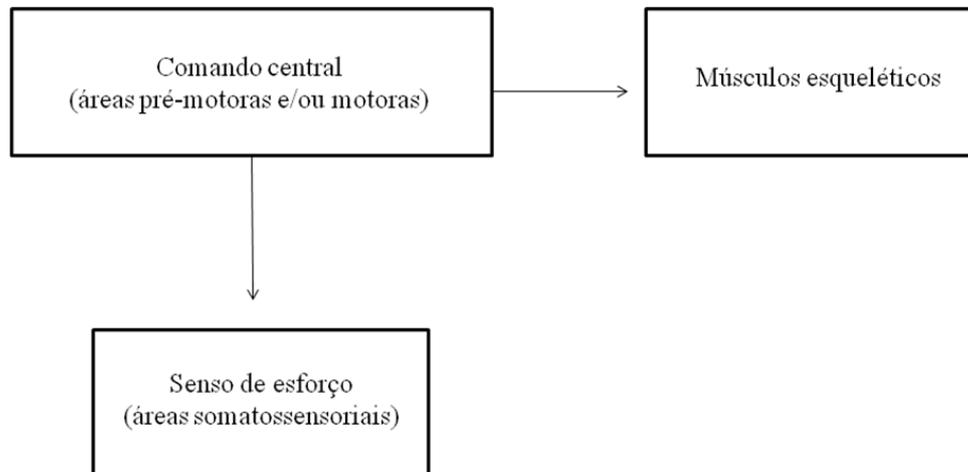
Anteriormente à proposta de Noakes *et al.* (2005), em nosso laboratório, Rodrigues e Garcia (1998) introduziram a idéia dos limites integrados. No modelo proposto por esses autores, a fadiga é um fenômeno multifatorial e representa um mecanismo de proteção, o qual evita que algum dos sistemas fisiológicos atinja seu limite. Em função das características do ambiente no qual o exercício é realizado, da sua intensidade e duração, os estímulos aferentes provenientes dos receptores periféricos (os quais sinalizam a intensidade das contrações musculares, a perfusão tecidual, alterações na temperatura corporal, a composição química do sangue, a disponibilidade de substratos, dentre outros) são permanentemente processados no sistema nervoso central (SNC) de acordo com a intensidade relativa do mesmo e determinam a atividade da via eferente que parte dos centros motores cerebrais até os músculos em contração. Embora tanto o modelo do Regulador Central quanto dos limites integrados considerem o SNC como o modulador da atividade motora decorrente integração da atividade das vias aferentes, o último vai além do modelo de Noakes ao considerar a biologia evolutiva na explicação dos mecanismos de fadiga. Portanto, recentemente em nosso laboratório o modelo dos limites integrados foi redefinido com o objetivo de incluir a perspectiva evolutiva (MARTINI, 2009) (FIGURA 1). Nessa nova perspectiva, a diminuição da intensidade do exercício ou sua interrupção ocorreria como resultado da ativação neural gerada por uma resposta integrada dos benefícios (metabolismo e reprodução) e riscos da continuidade do exercício (balanço energético negativo, danos físicos e morte). A ativação neural seria modulada pela por fatores como a taxa de elevação da temperatura interna, osmolalidade plasmática, concentração dos íons  $H^+$ , disponibilidade de oxigênio, perfusão sanguínea, reservas de carboidrato, concentração de dióxido de carbono e ritmo circadiano. Essa ativação seria continuamente percebida pelo sistema nervoso central para modular a atividade do córtex motor, resultando em modulação da motivação para o exercício (fadiga). Em determinadas situações um forte estímulo pode inibir o mecanismo de fadiga resultando em ruptura da homeostase (exaustão).



**FIGURA 1.** Modelo dos riscos e benefícios. A redução da intensidade do exercício ou sua interrupção ocorreria como resultado da ativação neural gerada por uma resposta integrada dos benefícios (metabolismo e reprodução) e riscos da continuidade do exercício (balanço energético negativo, danos físicos e morte). A ativação neural seria modulada pela: 1) taxa de acúmulo de calor, 2) osmolalidade plasmática, 3) concentração dos íons  $H^+$ , 4) disponibilidade de oxigênio, 5) perfusão sanguínea, 6) níveis de armazenamento de carboidrato, 7) níveis de dióxido de carbono e 8) ritmo circadiano. Essa ativação seria continuamente percebida pelo sistema nervoso central para modular a atividade do córtex motor, resultando em aumento da motivação ou à sua redução - o que caracterizaria a fadiga. Em determinadas situações, um forte estímulo poderia inibir o mecanismo de fadiga, o que resultaria em continuidade do exercício até o momento de ruptura da homeostase, que reduziria involuntariamente a potência muscular, caracterizando assim a exaustão. A possível plasticidade neural, ou seja, nova expressão fenotípica estimulada pelo exercício permitiria a aprendizagem, a aclimação e a adaptação às mudanças do ambiente. Adaptado de Martini (2009).

Embora exista consenso que a intensidade da ativação dos músculos locomotores é uma resposta antecipatória (MARCORA, 2008; TUCKER, 2009; NOAKES, 2012), a participação das vias aferentes na modulação da atividade motora ainda não é totalmente compreendida. Marcora (2008) propôs que o aumento da percepção do esforço ao longo do exercício é decorrente de um aumento momento a momento no comando motor central para os músculos locomotores e respiratórios para compensar as reduções progressivas na responsividade muscular a atividade neural e, portanto, independe das aferências provenientes dos receptores periféricos. Tal afirmação é baseada na teoria das descargas colaterais, na qual a percepção do esforço é gerada por meio de

mecanismos de pré-alimentação de áreas motoras para áreas sensoriais do córtex cerebral (MARCORA, 2009) (FIGURA 2).

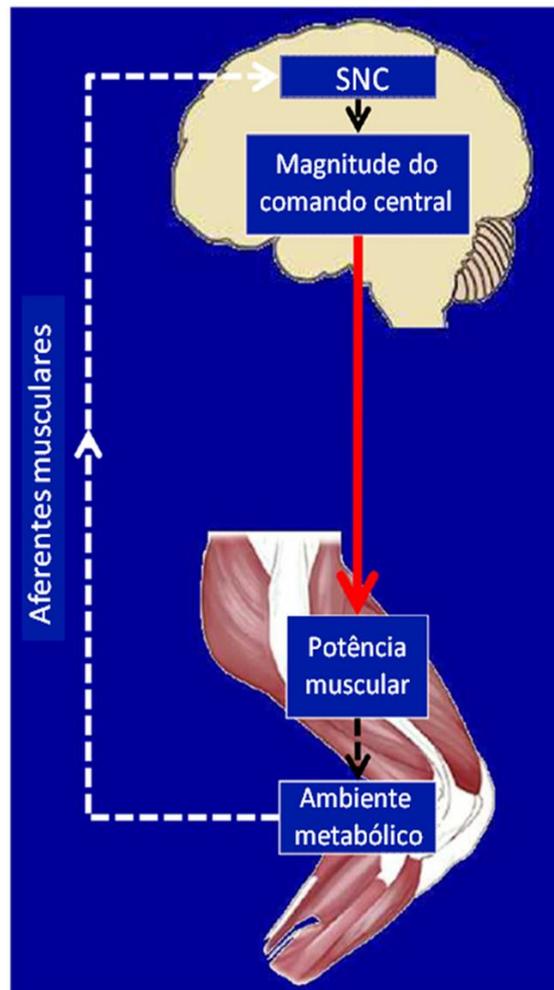


**FIGURA 2.** Modelo simplificado de descargas colaterais de percepção do esforço. Adaptado de Marcora (2009).

Essa hipótese foi baseada em estudos nos quais a anestesia epidural, a qual atenua a atividade aferente proveniente dos receptores musculares, não alterou o comando central para o sistema cardiovascular e a percepção subjetiva do esforço. De fato, o bloqueio espinal da transmissão aferente dos grupos de fibras III e IV proveniente dos metaborreceptores musculares não alterou o desempenho durante uma prova de ciclismo de 5 Km. Por outro lado, existem autores mostrando um papel importante das vias aferentes na taxa de percepção do esforço e no tempo de exercício até fadiga (AMANN *et al.*, 2008; PIRES *et al.*, 2011). Amann *et al.* (2008) mostraram que anestesia local das aferências somatossensoriais dos músculos em contração aumentou o comando central durante o exercício de alta intensidade, segundo o modelo proposto na FIGURA 3. No modelo, a projeção cortical das aferências musculares afeta a magnitude do comando central que por sua vez determina a potência gerada pelos músculos locomotores. A magnitude da potência gerada determina o ambiente metabólico nos músculos em contração, o qual determina a magnitude da retro-alimentação inibitória.

A participação das vias aferentes na regulação do desempenho físico pode ser estudada a partir das respostas cardiovasculares ao exercício, uma vez que estas ocorrem por meio de uma complexa interação envolvendo receptores

periféricos, mecanismos de pré-alimentação e vias eferentes autonômicas independentes. As vias aferentes provenientes do sistema cardiovascular, incluindo os receptores arteriais e metabólicos, modulam a atividade autonômica, mediada pelo tronco encefálico, para o coração e vasos sanguíneos.

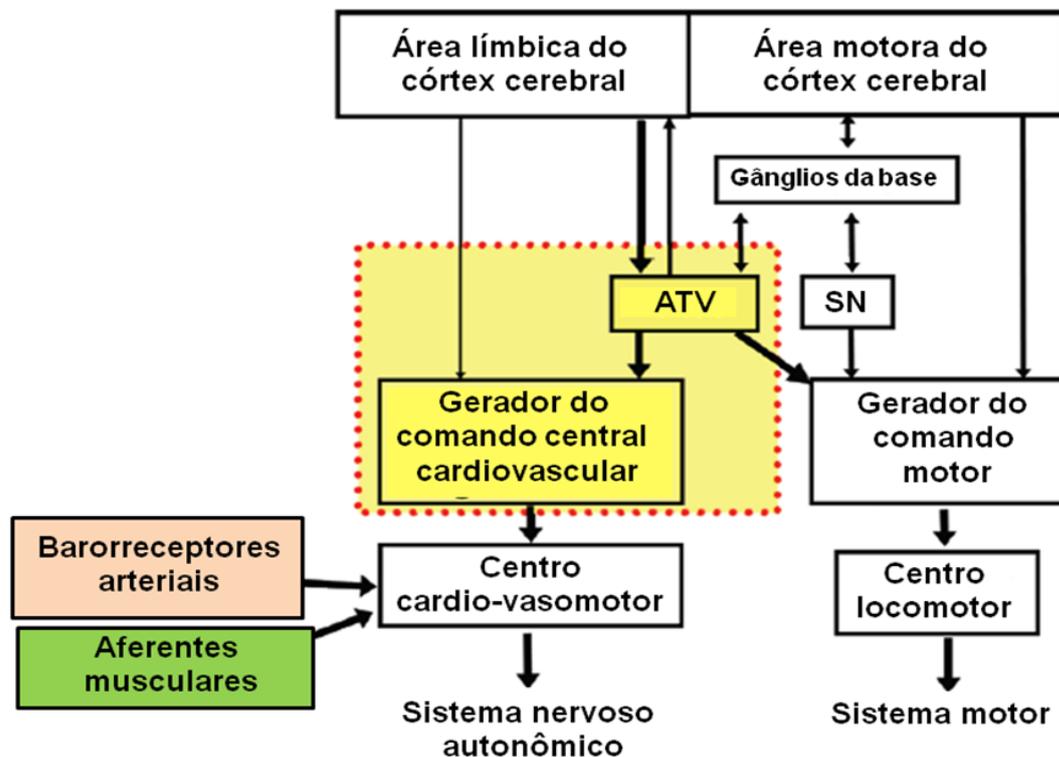


*Adaptado de Marcora (2010).*

**FIGURA 3.** Ilustração esquemática do modelo de inibição reflexa supraespinhal do desempenho físico proposto por Amann et al. (2008). A linha vermelha contínua indica a atividade eferente (comando central). A linha branca pontilhada indica a atividade aferente. Este mecanismo inibitório mostra que a projeção cortical das aferências musculares (retro-alimentação inibitória) afeta a magnitude do comando central que por sua vez determina a potência gerada pelos músculos locomotores. A magnitude da potência gerada determina o ambiente metabólico nos músculos em contração, o qual determina a magnitude da retro-alimentação inibitória.

Durante o exercício, a ativação do sistema cardiorrespiratório ocorre em paralelo à ativação dos centros cerebrais por meio de um mecanismo antecipatório integrado com os estímulos provenientes dos pressorreceptores (barorreceptores) e metaborreceptores periféricos (Rowell e O'Leary, 1990). Portanto, o foco do

presente estudo é o envolvimento dos barorreceptores arteriais no desempenho físico associado com as respostas autonômicas-cardiovasculares. Recentemente, Matsukawa (2012) descreveu um novo modelo com os circuitos neurais envolvidos na geração do comando central cardiovascular (FIGURA 4).



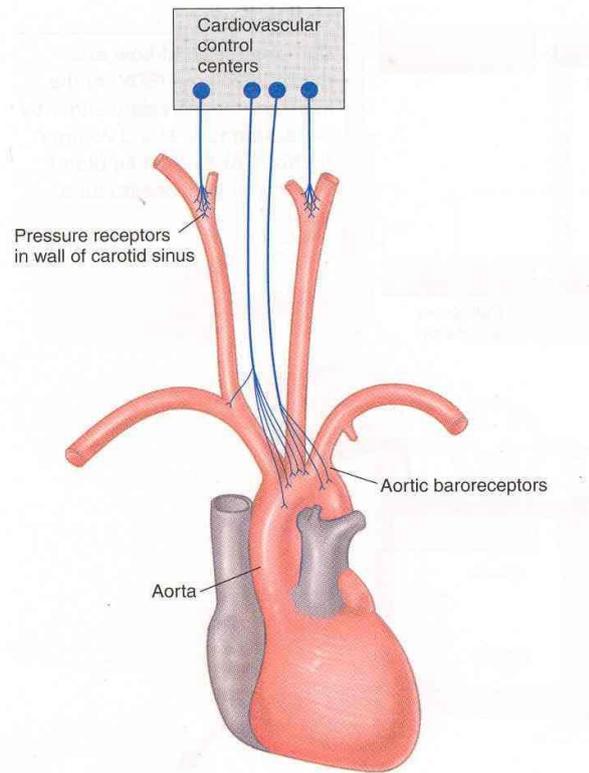
*Adaptado de Matsukawa (2012).*

**FIGURA 4.** Circuitos neurais envolvidos na geração do comando central cardiovascular. ATV: área tegmentar ventral; SN: substância negra.

A pré-alimentação proveniente de áreas límbicas do córtex cerebral é integrada em áreas caudais, incluindo a área tegmentar ventral (ATV), que está envolvida na geração do comando central. A estimulação dos neurônios da ATV resulta na excitação sincronizada das vias eferentes simpáticas e motoras. Ainda não se sabe se a ATV gera o comando central por si própria, ou se a ATV pode excitar um gerador do comando central. Este último induz o aumento da atividade simpática antes do início da atividade locomotora, contribuindo para o aumento da frequência cardíaca. O aumento na atividade simpática cardíaca é parcialmente produzido pela inibição seletiva do componente cardíaco do barorreflexo aórtico pelo comando central. Considerando esse modelo, nós decidimos avaliar a participação

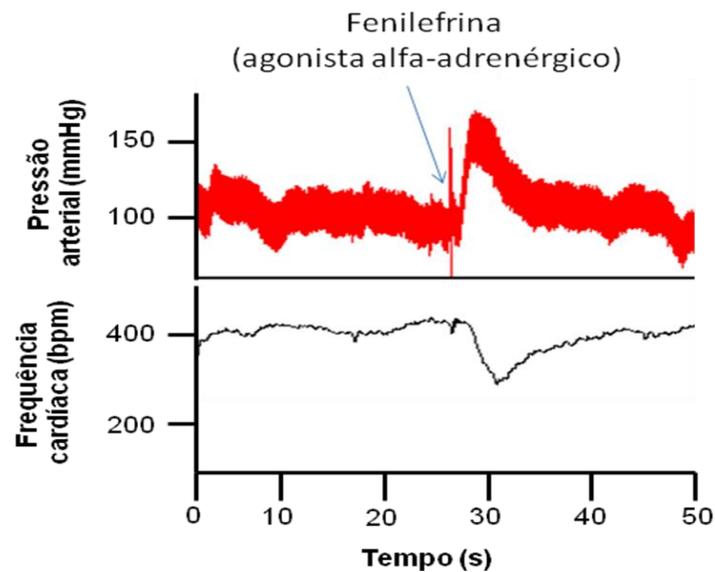
do barorreflexo arterial por este ser o principal mecanismo de ajuste agudo da pressão arterial.

O barorreflexo arterial é o principal mecanismo que ajusta as oscilações de curto prazo da pressão arterial. Os barorreceptores estão localizados predominantemente no arco aórtico e no seio carotídeo e são estimulados pelo estiramento das paredes das artérias (FIGURA 5).



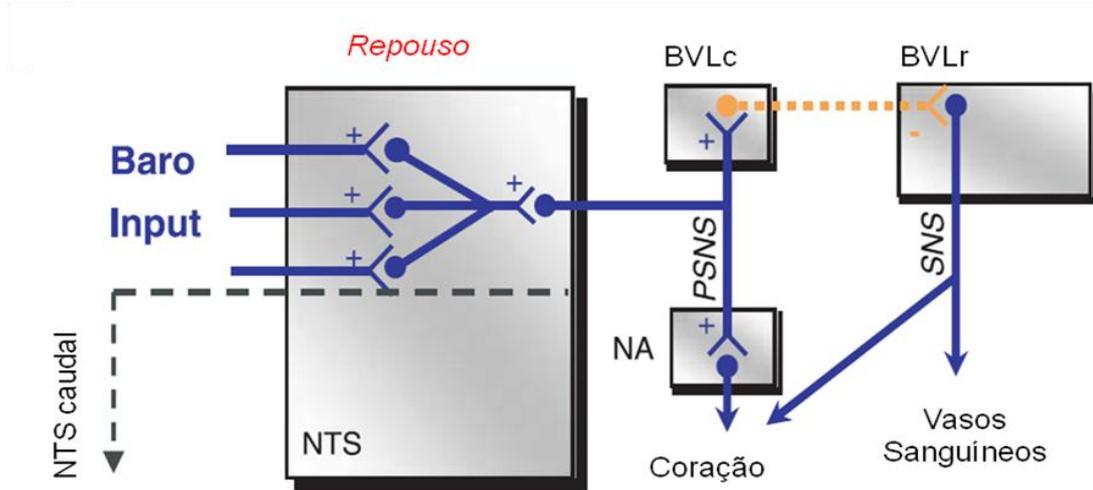
**FIGURA 5.** Desenho esquemático mostrando a localização anatômica dos barorreceptores arteriais.

Este funciona como um mecanismo de retro-alimentação por meio da modulação da atividade autonômica eferente para o coração e da atividade simpática para os vasos sanguíneos (ROWELL e SHEPHERD, 1996). Se a pressão arterial desvia da faixa adequada para a manutenção do fluxo sanguíneo tecidual, os barorreceptores são estimulados para que esta seja reajustada aos valores basais. Estes receptores são sensíveis às alterações mecânicas exercidas nas paredes dos vasos por aumentos ou diminuições na pressão arterial (FIGURA 6).



**FIGURA 6.** Sensibilidade barorreflexa à injeção intravenosa de um agonista alfa-adrenérgico (fenilefrina). Quando a pressão arterial desvia da faixa adequada para a manutenção da perfusão tecidual, os barorreceptores são estimulados e reajustam a pressão arterial por meio da modulação da atividade autonômica eferente.

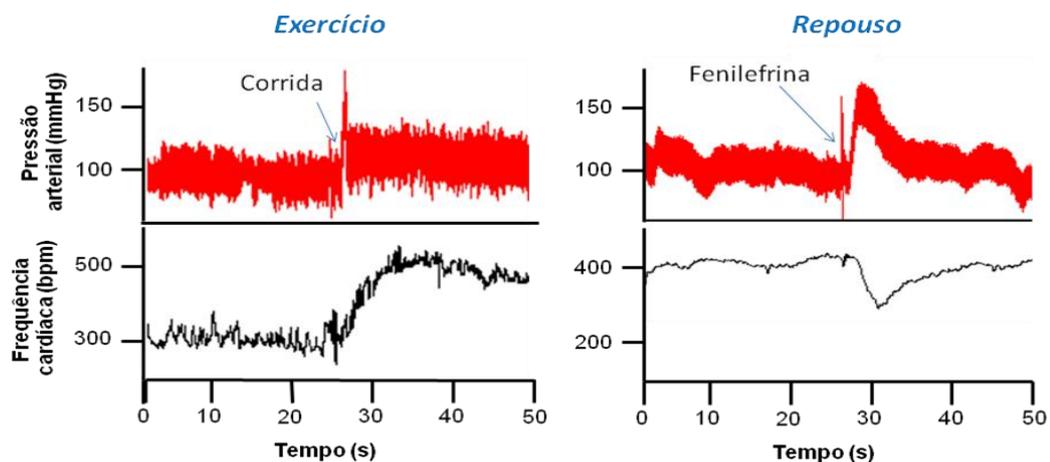
Os potenciais de ação gerados pela estimulação dos barorreceptores são conduzidos ao sistema nervoso central por meio do nervo vago e do nervo glossofaríngeo. O principal local de integração da função barorreflexa é o núcleo do trato solitário (NTS) localizado no bulbo. Do NTS existem projeções para a região ventrolateral caudal e desta para a região ventrolateral rostral do bulbo, de onde partem projeções para a coluna intermediolateral da medula espinhal. Este é o principal local de origem das fibras simpáticas na medula espinhal. Do NTS existem também projeções para dois outros núcleos neuronais, núcleo ambíguo (NA) e dorso motor do vago (DMV), que modulam a divisão parassimpática do sistema autonômico (FIGURA 7).



Adaptado de Potts (2005)

**FIGURA 7.** Desenho esquemático mostrando a integração barorreflexa durante o repouso.

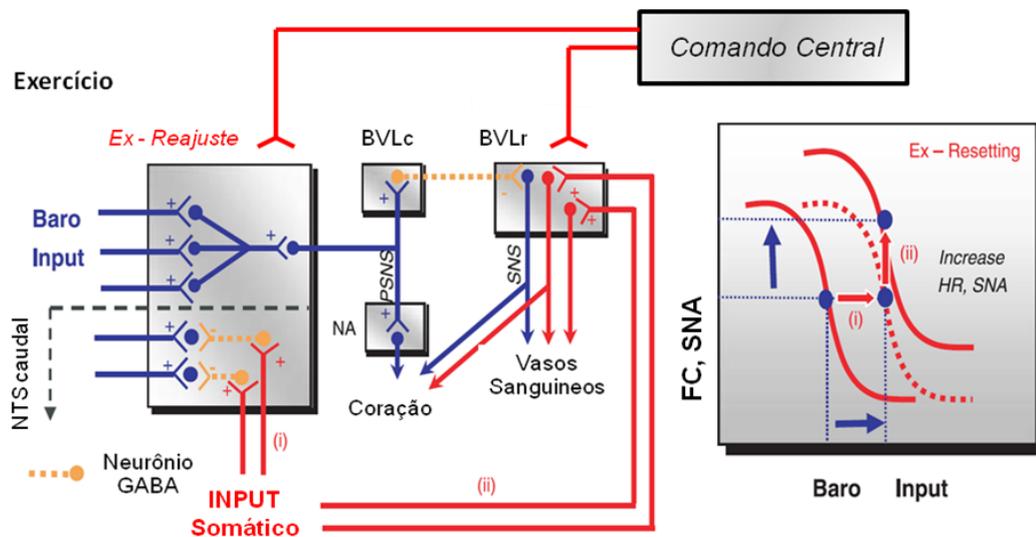
Por outro lado, para que ocorra o aumento do fluxo sanguíneo nos músculos durante o exercício a pressão de perfusão aumenta. Para isso, ocorre aumento simultâneo da pressão arterial e da frequência cardíaca, ao contrário da condição de repouso. Este aumento simultâneo ocorre porque o barorreflexo é reajustado a um maior valor de pressão arterial média (ponto de ajuste) (FIGURA 8).



**FIGURA 8.** Alterações na pressão arterial e na frequência cardíaca induzidas pelo exercício e pela injeção de fenilefrina. Note que durante o exercício ocorre aumento simultâneo da pressão arterial e da frequência cardíaca, ao contrário do que ocorre após a injeção de fenilefrina. Este aumento simultâneo durante o exercício ocorre porque o barorreflexo é reajustado a um maior valor de pressão arterial média.

O reajuste do barorreflexo ocorre pela interação da modulação de três vias neurais (FIGURA 9):

- A ativação do comando central no início e durante o exercício altera a função neuronal dentro do NTS e no bulbo ventrolateral rostral
- A estimulação dos metaborreceptores musculares limita a grau de excitação dos neurônios barossensíveis no NTS, por meio de um mecanismo GABAérgico inibitório
- A ativação dos metaborreceptores excita diretamente os neurônios pré-motores simpáticos no RVL.



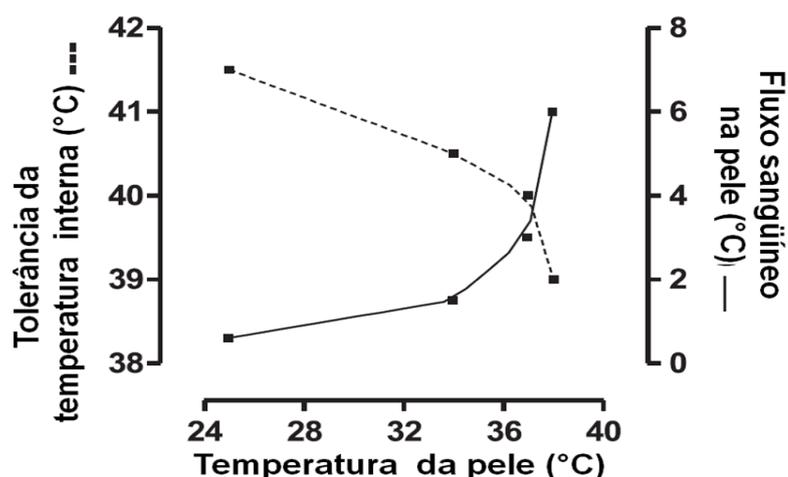
Adaptado de Potts (2005)

**FIGURA 9.** Desenho esquemático mostrando a integração barorreflexa durante o exercício. Os neurônios aferentes provenientes dos barorreceptores formam uma sinapse excitatória com neurônios de segunda ordem no núcleo do trato solitário (NTS), dos quais existem projeções para o núcleo ambíguo (NA) e para o bulbo ventrolateral caudal (BVLc). O efeito deste circuito no NTS é estabelecer o ponto de operação para a frequência cardíaca (FC) e atividade simpática central (SNA), como mostrado na curva da função barorreflexa à direita. O modelo mostra que o aumento da atividade aferente barorreflexa aumenta a atividade no NTS. Este aumento da atividade neural é transmitido ao NA, excitando os motoneurônios vagais cardíacos, e o BVLc, excitando os neurônios GABAérgicos que inibem os neurônios pré-motores no BVLr (BVLr). A ativação destes circuitos resulta na diminuição da frequência cardíaca e simpatoinibição. Note que o nível de atividade neural nestas vias é indicado pela linha pontilhada. A ativação do comando central pode alterar a atividade no NTS e no BVLr resultando em excitação simpática. Alternativamente, a ativação de um circuito inibitório por meio das aferências provenientes dos músculos esqueléticos (i) pode normalizar o nível de atividade do NTS e assim limitar o grau de baroinibição do coração e vasos periféricos. A ativação deste circuito pode reajustar a curva da função barorreflexa lateralmente, como indicado em (ii). Note que este mecanismo é restrito ao NTS caudal. GABA, ácido  $\gamma$ -aminobutírico; PSNS, sistema nervoso parassimpático; SNS, sistema nervoso simpático.

De acordo com esta informação, vários estudos demonstraram a participação dos barorreceptores arteriais tanto nas respostas cardíacas quanto hemodinâmicas induzidas pelo exercício. Estudos prévios mostraram que a remoção cirúrgica das

baro-aferências aórticas e carotídeas (método de deservação sino-aórtica) induziu aumento exagerado da pressão arterial (WAKI *et al.*, 2003), aumento da condutância vascular ilíaca (MARTÍNEZ-NIEVES *et al.*, 2000) e redução da condutância mesentérica em resposta ao exercício (COLLINS *et al.*, 2001). Em adição, a deservação sino-aórtica rompeu os ajustes simpato-cardiovasculares induzidos pelo aquecimento corporal passivo (KREGEL *et al.*, 1990). Embora existam evidências da necessidade dos circuitos barorreflexos para que a resposta autonômica-cardiovascular induzida pelo exercício seja precisa à necessidade de perfusão tecidual, não existem dados acerca dos efeitos das alterações cardiovasculares induzidas pela baro-deaferentação sobre o desempenho físico.

É bem estabelecido que a temperatura ambiental modula o desempenho, sendo este menor durante o exercício prolongado em ambiente quente quando comparado ao ambiente temperado (GONZÁLEZ-ALONSO *et al.*, 1999; PARKIN *et al.*, 1999). Durante o exercício em ambiente quente, além da manutenção da perfusão tecidual ocorre aumento do fluxo sanguíneo na pele para dissipar o calor corporal, resultando em aumento do esforço cardiovascular, que é um mediador da percepção do esforço. Embora os mecanismos que levam à redução do desempenho durante o exercício no calor não sejam totalmente compreendidos, é sugerido que o aumento da demanda cardiovascular seja o principal fator levando à redução do desempenho físico (CHEUVRONT *et al.*, 2010) (FIGURA 10).



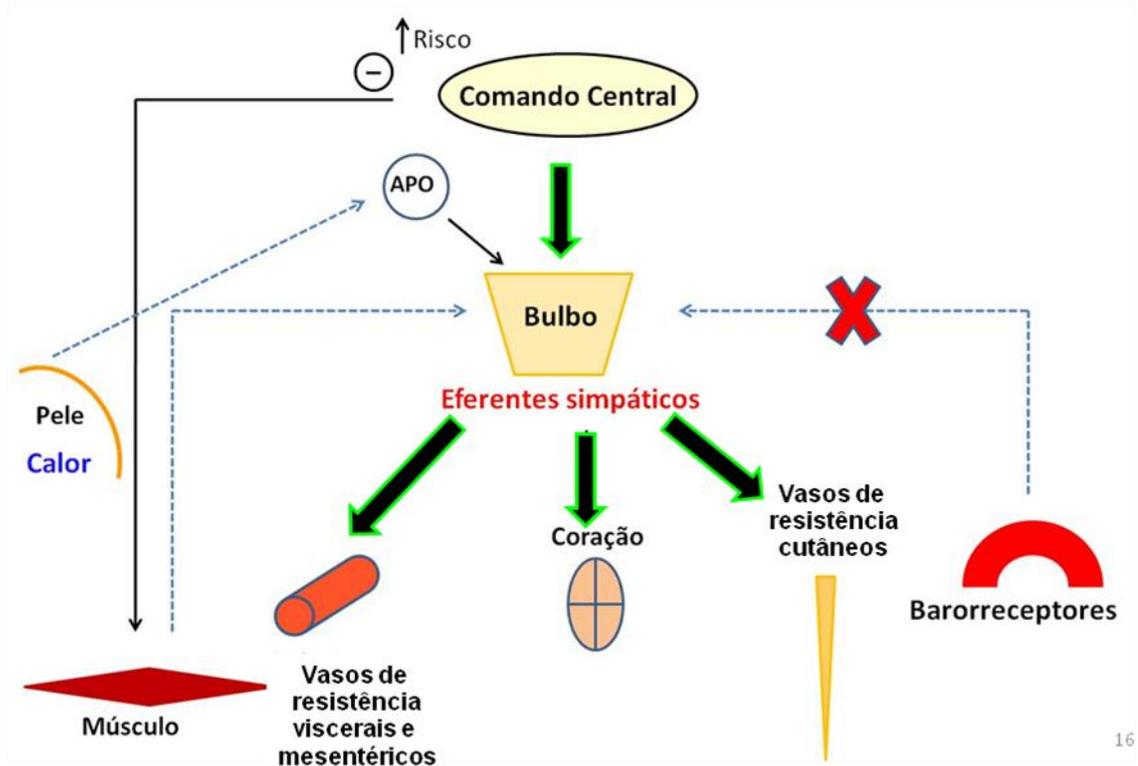
*Adaptado de Cheuvront et al. (2010)*

**FIGURA 10.** Tolerância ao aumento da temperatura corporal interna durante o exercício físico no calor e o fluxo sanguíneo na pele associado com a temperatura da pele. Note que a tolerância ao aumento da temperatura interna é inversamente proporcional à necessidade de fluxo sanguíneo na pele.

A participação do sistema cardiovascular na antecipação da fadiga está associada à relação inversa entre a tolerância ao aumento da temperatura corporal interna e o fluxo sanguíneo cutâneo, em detrimento ao alcance de uma temperatura interna crítica. Nesse sentido, SAWKA *et al.* (2001) mostraram que quando a temperatura da pele é mantida em valores elevados por meio do estresse térmico ambiental, o exercício é interrompido com valores de temperatura interna próximos a 38,5°C, abaixo do valor considerado crítico: 40°C.

De acordo com as informações mencionadas acima, é possível que a influência dos barorreceptores arteriais sobre o desempenho físico seja mais evidente durante o exercício em ambiente quente. De fato, a desnervação sino-aórtica exacerbou o aumento na pressão arterial, na frequência cardíaca, na resistência vascular mesentérica e nas concentrações plasmáticas de noradrenalina quando ratos foram expostos a um ambiente quente (KREGEL *et al.*, 1990). Entretanto, não existem experimentos prévios mostrando o impacto da remoção das aferências barorreflexas sobre o desempenho físico no calor.

Portanto, no presente estudo nós verificamos as inter-relações das aferências provenientes da estimulação dos barorreceptores periféricos, a ativação autonômica induzida pelo comando central e o desempenho físico. Para tanto, utilizamos dois protocolos de exercício físico: exercício com velocidade constante e com aumentos progressivos, os quais permitiram estudar os efeitos da barodesnervação em função da duração e da intensidade do esforço, em duas temperaturas ambientais: temperado e quente. Nossa hipótese é que a ausência das aferências provenientes dos barorreceptores arteriais altera a modulação da atividade nos centros cerebrais de controle cardiovascular e conseqüentemente as respostas autonômicas, resultando em diminuição do desempenho físico. Tal efeito pode ser exacerbado durante o exercício físico no calor, situação na qual a interrupção do esforço está associada predominantemente ao aumento do esforço cardiovascular (FIGURA 11).



APO = área pré-óptica

**FIGURA 11.** Desenho esquemático mostrando a hipótese do estudo. A remoção das vias aferentes provenientes dos barorreceptores irá exacerbar o aumento induzido pelo exercício na atividade simpática para o coração e vasos de resistência viscerais e mesentéricos, resultando em maiores aumentos na pressão arterial, na frequência cardíaca e alterações na termorregulação. Estes efeitos podem ser amplificados pela estimulação dos termorreceptores da pele e internos. É possível que tais alterações aumentem o risco para a continuidade do exercício e resultando na antecipação da fadiga.

## **1.1 Objetivo**

O objetivo do presente estudo foi investigar se a ausência das aferências provenientes dos barorreceptores arteriais reduz o desempenho físico em ambientes temperado e quente e se esta redução é decorrente de alterações nos ajustes neurais cardiovasculares.

## 2. PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

### 2.1 Animais

Foram utilizados ratos Wistar pesando entre 280 e 350 g no primeiro experimento, provenientes do Centro de Bioterismo do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Os animais foram mantidos em gaiolas individuais em uma sala com temperatura seca controlada ( $24 \pm 1^\circ\text{C}$ ), sob um ciclo claro-escuro de 14 - 10 h (5:00 – 19:00), com acesso à ração granulada e água *ad libitum*. Os procedimentos experimentais realizados neste estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CETEA) da UFMG (Protocolo nº 178/2010). Durante o estudo foram realizados experimentos com 66 ratos. Entretanto, os resultados apresentados correspondem aos dados coletados com 40 animais, portanto, houve perda de 40%. As razões dessa perda incluem: animais que morreram durante ou após algum dos procedimentos cirúrgicos; animais que não correram durante os protocolos de exercício e problemas com o registro da pressão pulsátil.

### 2.2 Delineamento experimental

Para alcançar os objetivos do presente estudo foram realizados três experimentos. O primeiro foi realizado para investigar o impacto da desnervação sino-aórtica (DSA) nas respostas cardiovasculares e termorregulatórias durante o aquecimento corporal passivo. Nesse experimento, os ratos foram submetidos à DSA ou cirurgia fictícia como controle (CON) e, após a recuperação dessa cirurgia, foram implantados um sensor de temperatura na cavidade peritoneal e um cateter na aorta ascendente. Cada animal foi submetido a duas sessões experimentais: repouso em temperatura ambiente temperada ( $25^\circ\text{C}$ ) e exposição ao ambiente quente ( $35^\circ\text{C}$ ) (FIGURA 12).

No segundo experimento, foram avaliados os efeitos induzidos pela DSA no desempenho físico e nos ajustes cardiovasculares e termorregulatórios durante o exercício com velocidade constante (18m/min; 5% de inclinação; até a fadiga). O exercício com velocidade constante foi escolhido com o objetivo de promover a



Não foram utilizados os mesmos animais nos três experimentos porque nos nossos experimentos prévios não foi possível registrar a pressão arterial pulsátil por mais de cinco dias após a canulação da carótida (PIRES *et al.*, 2007, 2010). Assim, se cada animal fosse submetido a quatro ou mais situações experimentais após a canulação, não teríamos o registro da pressão arterial em todas as situações. No terceiro experimento não foram realizados os testes progressivos pré e pós-cirurgias (DSA ou CON) no calor. Isso foi baseado em outro estudo do nosso laboratório, no qual dos sete ratos intactos que foram submetidos a um teste com aumentos progressivos da velocidade (similar ao teste adotado no terceiro experimento), quatro animais morreram entre 2 a 24 h após o teste realizado em temperatura ambiente de 35°C (dados não publicados). Por este mesmo motivo, a ordem dos exercícios nas diferentes temperaturas não foi aleatória, sendo que o exercício no calor foi realizado sempre na última sessão experimental. Todas as sessões experimentais foram realizadas entre 8:00 e 16:00 h, e houve o cuidado de testar cada animal no mesmo horário do dia.<sup>3</sup>

## **2.3 Tratamento dos animais**

### **2.3.1 Anestesia e cuidados pós-operatórios**

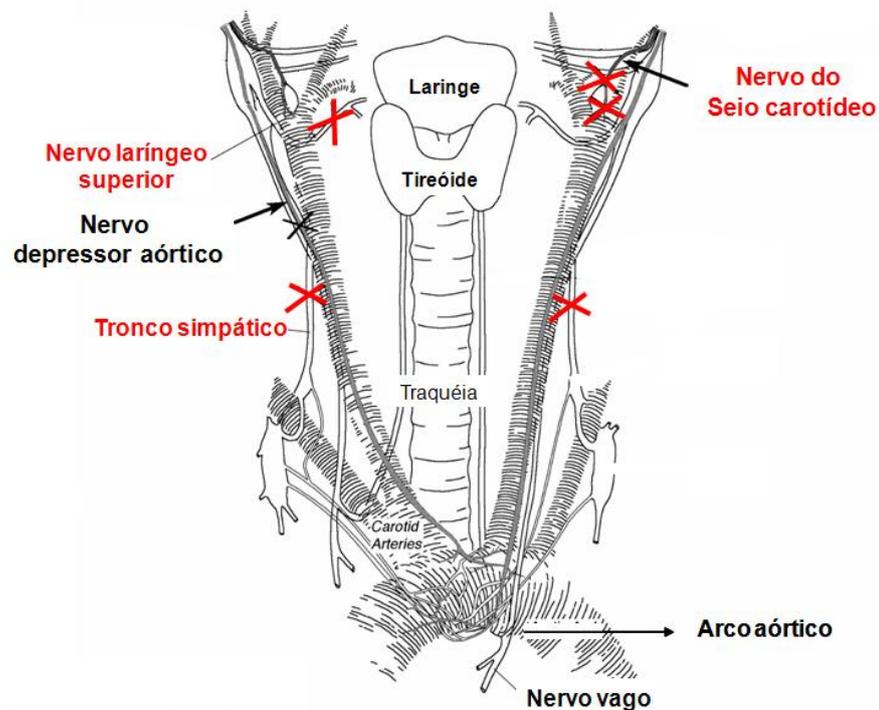
Todos os procedimentos cirúrgicos foram realizados sob anestesia com ketamina e xilazina (90 e 10,5 mg/kg, respectivamente, intraperitonealmente). Imediatamente após todas as cirurgias, os ratos receberam dose profilática intramuscular de antibiótico (pentabiótico, 48000 IU/kg de massa corporal) e uma injeção subcutânea de medicação analgésica (banamine, 1,1 mg/kg de massa corporal).

### **2.3.2 Desnervação sino-aórtica**

A desnervação sino-aórtica foi realizada de acordo com o método descrito por Krieger (1964). Inicialmente, foi realizada uma incisão na linha média na região ventral do pescoço, e os músculos esternocleidomastóideos e omo-hióideos bilaterais foram rebatidos lateralmente para expor as artérias carótidas comuns. Os

nervos aórticos foram identificados com o auxílio de um microscópio binocular cirúrgico (OPTO FI04, São Carlos, SP, BRA), isolados e seccionados bilateralmente. Os troncos simpáticos foram seccionados bilateralmente abaixo do gânglio simpático cervical superior, e os nervos laríngeos superiores foram também seccionados bilateralmente o mais próximo possível da laringe para interromper qualquer filamento remanescente do nervo aórtico. As fibras e os tecidos conectivos das paredes das carótidas ao redor da região da bifurcação foram retirados em ambos os lados, e a área foi banhada com uma pequena quantidade de fenol (10%) diluído em etanol (FIGURA 14).

### Desnervação sino-aórtica crônica (DSA)



*Adaptado de Chan et al. (2000)*

**FIGURA 14.** Diagrama esquemático mostrando a localização e as secções dos nervos durante a cirurgia de desnervação sino-aórtica.

Foi dado um intervalo de tempo (aproximadamente 21 dias) para que os ratos recuperassem suas massas corporais pré-operatórias antes de outros procedimentos cirúrgicos. Como procedimento controle, outro grupo de ratos foi submetido a uma cirurgia fictícia de desnervação. Foi realizada uma incisão no pescoço e os gânglios e nervos descritos acima foram expostos, entretanto não foram seccionados.

No dia subsequente ao término dos experimentos, foi realizado um teste de efetividade da barodesnervação. A sensibilidade barorreflexa foi verificada por meio da análise das respostas reflexas cardíacas a aumentos e diminuições na pressão arterial induzidas por injeções intravenosas de 0,1 mL fenilefrina, um agonista  $\alpha$ -adrenérgico, (1,0-2,5  $\mu\text{g/mL}$  em 0,1 mL de salina) e nitroprussiato de sódio, um doador de óxido nítrico, (2-5  $\mu\text{g/mL}$  em 0,1 mL de salina), respectivamente.

### 2.3.3 Familiarização ao exercício em esteira rolante

Os animais foram familiarizados a correr em uma esteira rolante para pequenos animais (Columbus Instruments, OH, EUA, Modular Treadmill) durante 5 dias consecutivos a uma velocidade constante (18 m/min; inclinação de 5%; 5 minutos por dia). Durante as sessões, os ratos foram estimulados a correr por meio de uma corrente elétrica (0,5 mA; 0,5 mV) sempre que tocassem ou permanecessem sobre a grade de estímulo elétrico localizada na parte posterior da esteira. Durante o período de familiarização, os ratos correram com um termossensor (Yellow Spring Instruments - YSI) afixado na cauda. O objetivo da familiarização foi mostrar aos animais em qual direção correr e possibilitar que os mesmos se adaptassem ao ambiente do experimento.

### 2.3.4 Implante do cateter arterial e do sensor de temperatura

Após a última sessão de familiarização, foi implantado um cateter para a medida da pressão arterial pulsátil dos ratos. O cateter utilizado foi confeccionado com tubos de polietileno de diâmetros (PE50 e PE10; Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ, USA) e comprimentos diferentes (7 e 4 cm) soldados por aquecimento. O cateter foi preenchido com salina heparinizada, constituída de 0,1 mL de heparina sódica 25000UI (Liquemine®, Roche, RJ, Brasil) em 20 mL de salina, para evitar obstrução da sua luz e uma de suas extremidades foi ocluída com um pino de aço. Após a depilação da região do pescoço foi feita uma incisão de aproximadamente 0,7 cm neste local, possibilitando o acesso à artéria carótida esquerda. Foi feita uma incisão na artéria e o cateter foi inserido na aorta ascendente (3 cm a partir da

incisão). Após a depilação da região cervical dorsal do animal o cateter foi exteriorizado na região cervical e fixado à pele por meio de um fio de sutura, permitindo livre movimentação do animal (PIRES *et al.*, 2007). O cateter foi lavado e preenchido diariamente com salina heparinizada.

Imediatamente após a canulação arterial, foi implantado um sensor de temperatura na cavidade peritoneal (Mini-Mitter, Sunriver, OR, EUA, série 3000 VMFH, massa de 2,2 g) para medida da temperatura corporal interna por telemetria. O sensor foi inserido na cavidade peritoneal por meio de uma incisão ventral de aproximadamente 2 cm, seguida de outra incisão na linha Alba do músculo reto abdominal, possibilitando o acesso à cavidade peritoneal. Após a inserção do sensor, o músculo abdominal e a pele foram suturados por meio de uma pequena incisão na linha alba. Após os ratos recuperarem das cirurgias, eles foram submetidos às sessões experimentais.

#### 2.3.5 Implante de cateter no átrio direito

Em seguida foi inserido um cateter de silicone (0,59 mm de diâmetro interno x 0,99 mm de diâmetro externo) (Ciencor Scientific Ltda, SP, Brasil) aproximadamente 4 cm através da veia jugular direita, até o átrio direito, para a realização das colheitas de sangue (LIMA *et al.*, 1998). A extremidade livre do cateter foi exteriorizado na região cervical dorsal do animal e fixada ao cateter arterial.

## 2.4 Exposição ao calor

Inicialmente, os animais foram mantidos dentro na caixa acrílica da esteira (com livre movimentação) durante 60 minutos em ambiente temperado (25°C). Após este período de estabilização, os ratos foram mantidos em ambiente temperado (controle) ou foram submetidos ao aquecimento passivo (35°C) por 60 minutos adicionais. No protocolo de exposição ao calor, os ratos foram mantidos em uma temperatura ambiente de 35°C, alcançada por uma corrente de ar constante, gerada por um aquecedor portátil (Britania AB1100, BRA) posicionado na frente da esteira.

As respostas termorregulatórias e cardiovasculares foram medidas durante os 60 minutos finais do repouso no ambiente temperado ou durante a exposição ao calor.

## **2.5 Corrida com velocidade constante**

No dia dos experimentos, a temperatura dentro da caixa acrílica da esteira foi mantida constante em 25°C ou 35°C. Um termossensor (YSI Inc., Dayton, OH, USA) foi fixado na base da cauda (~1 cm) com esparadrapo e o cateter arterial foi conectado a um transdutor de pressão (Biopac Systems, Santa Barbara, CA, USA), acoplado a um sistema de aquisição de dados analógico/digital (MP100, Biopac Systems). Então, os animais foram submetidos ao exercício com a velocidade da esteira mantida em 18 m/min e 5% de inclinação, intensidade de exercício utilizada em estudos prévios do laboratório (SOARES *et al.*, 2004; PIRES *et al.*, 2010), que correspondeu a ~60% da velocidade máxima alcançada durante o teste com aumentos progressivos da velocidade. A corrida foi realizada até a fadiga, definida como o ponto no qual os animais não foram mais capazes de continuar o exercício, permanecendo sobre a grade de estímulo elétrico por ao menos 10 s (WANNER *et al.*, 2007).

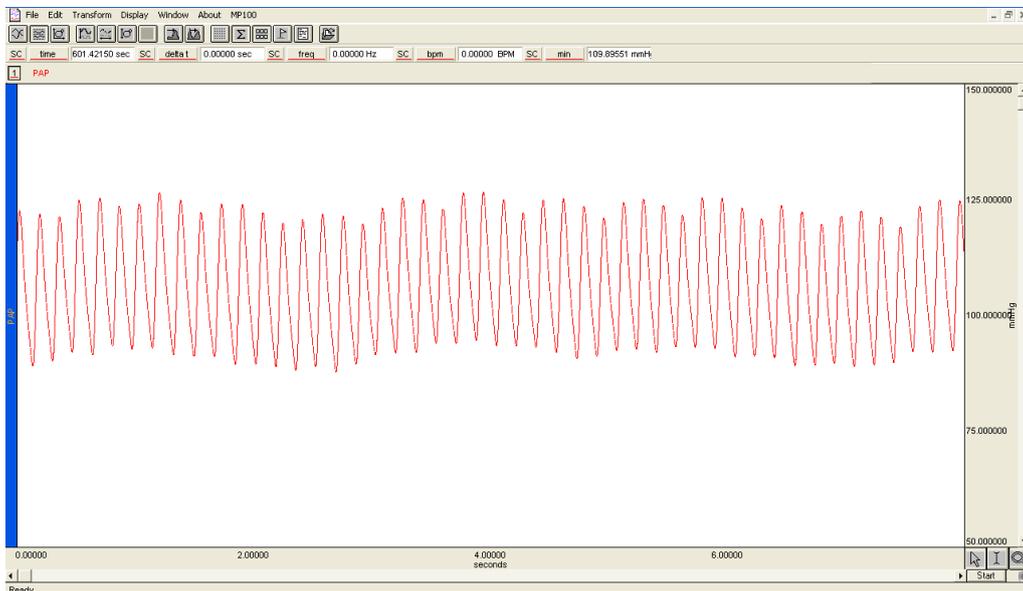
## **2.6 Corrida com aumentos progressivos da velocidade**

No terceiro experimento, foi realizado um teste de exercício progressivo na esteira rolante. Nos dois primeiros minutos, os ratos correram a 10 m/min, seguidos por incrementos de 1 m/min a cada dois minutos até a fadiga. A inclinação da esteira foi mantida em 5% (WANNER *et al.*, 2011).

## 2.7 Análise da variabilidade da pressão arterial sistólica e da frequência cardíaca (modulação autonômica cardiovascular; detalhes em anexo)

### 2.7.1 Aquisição dos parâmetros cardiovasculares

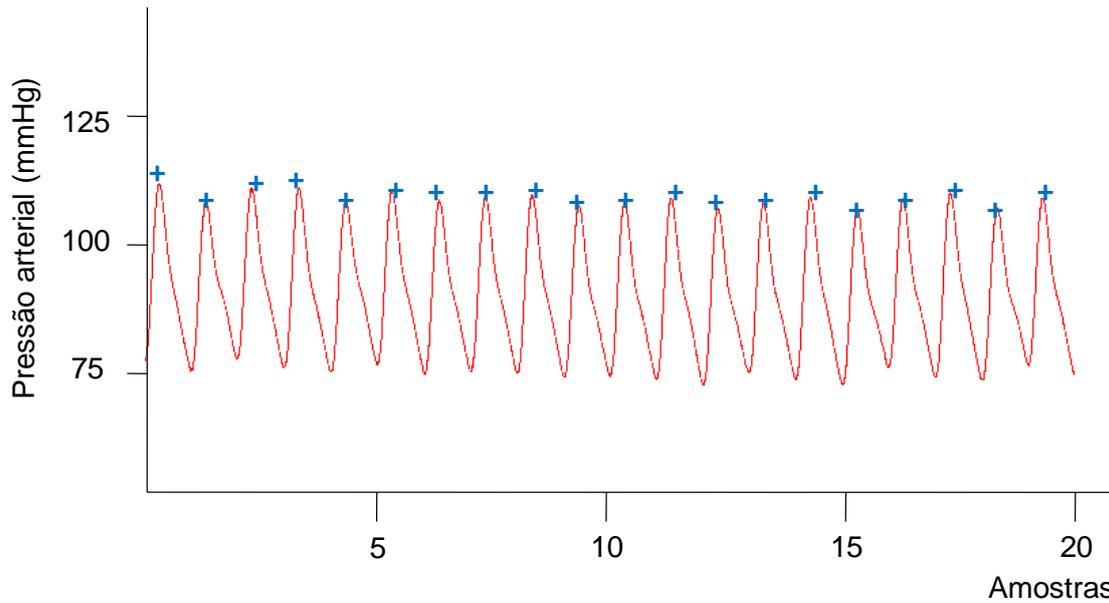
Durante os experimentos, a pressão arterial pulsátil (PAP) dos ratos foi medida continuamente e amostrada em uma taxa fixada em 2 kHz. O sinal foi processado por um software (ACQKNOWLEDGE versão 3.7.0, Biopac Systems) e armazenado em disco rígido sob a forma de arquivo de dados (FIGURA 15).



**FIGURA 15.** Registro da pressão arterial pulsátil (software ACQKNOWLEDGE) de um rato durante o repouso em ambiente temperado. A frequência de amostragem do software foi mantida em 2 kHz.

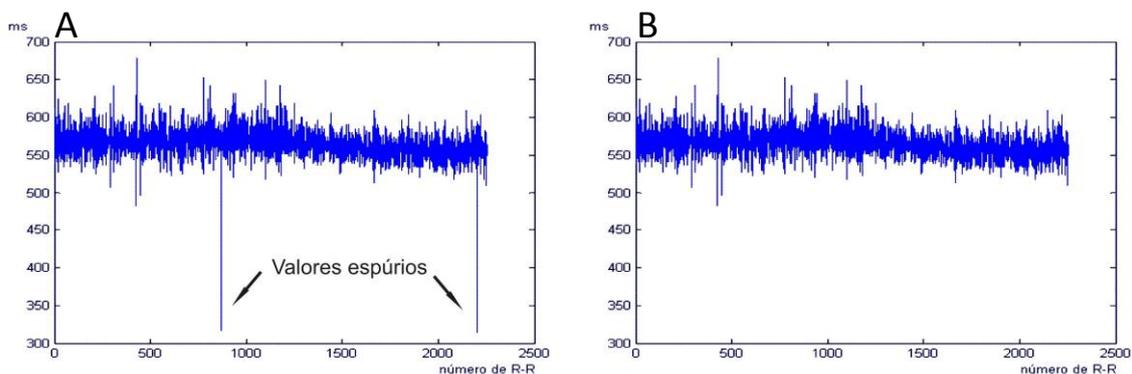
### 2.7.2 Processamento do arquivo de dados cardiovasculares

Os valores da pressão arterial sistólica (SAP) foram identificados a cada batimento e o intervalo de pulso (IP) foi definido como o intervalo entre dois picos sistólicos consecutivos usando uma rotina personalizada (MATLAB 7.8, Mathworks, Natick, MA, USA). Em seguida, por meio de um algoritmo (seqüência de instruções necessárias para realizar uma tarefa) foram calculados os intervalos de tempo entre os picos sistólicos (FIGURA 16).



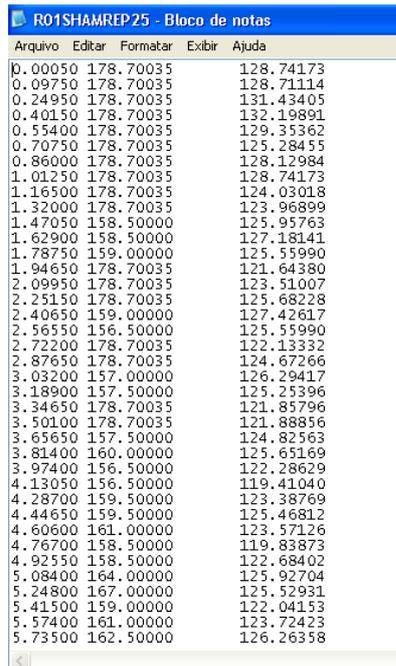
**FIGURA 16.** Pressão arterial em função do número de amostras. Um algoritmo desenvolvido no software MATLAB detectou os picos sistólicos (pontos em azul) no registro da pressão arterial (em vermelho), os quais foram utilizados para o cálculo do intervalo de pulso.

Na seqüência, os valores espúrios foram excluídos. Foram considerados valores espúrios aqueles que eram maiores do que a média acrescidos de dois desvios padrão. Uma vez detectados, estes foram substituídos pela média do trecho analisado (FIGURA 17).



**FIGURA 17.** Gráfico dos intervalos entre os picos sistólicos em função do número de amostras (tacograma). No painel A está mostrado o tacograma com valores espúrios e o painel B mostra o mesmo tacograma após a exclusão desses valores.

Os valores da pressão arterial sistólica e dos intervalos entre os picos sistólicos a cada batimento foram gerados em um arquivo do formato .txt. Esses arquivos foram utilizados posteriormente para a análise da variabilidade cardiovascular do domínio do tempo e no domínio da frequência (FIGURA 18).

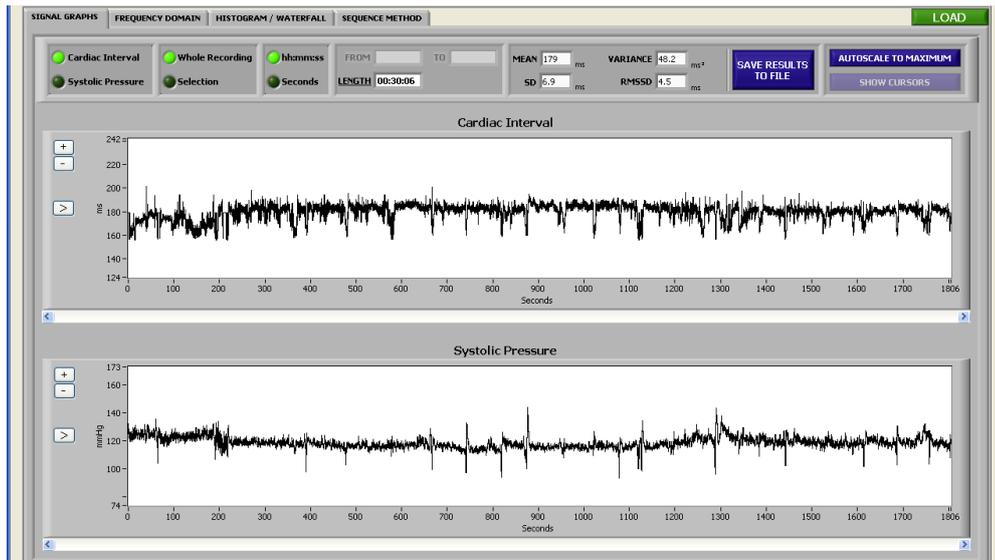


Arquivo	Editar	Formatar	Exibir	Ajuda
0.00050	178.70035	128.74173		
0.09750	178.70035	128.71114		
0.24950	178.70035	131.43405		
0.40150	178.70035	132.19891		
0.55400	178.70035	129.35362		
0.70750	178.70035	125.28455		
0.86000	178.70035	128.12984		
1.01250	178.70035	128.74173		
1.16500	178.70035	124.03018		
1.32000	178.70035	123.96899		
1.47050	158.50000	125.95763		
1.62900	158.50000	127.18141		
1.78750	159.00000	125.55990		
1.94650	178.70035	121.64380		
2.09950	178.70035	123.51007		
2.25150	178.70035	125.68228		
2.40650	159.00000	127.42617		
2.56550	156.50000	125.55990		
2.72200	178.70035	122.13332		
2.87650	178.70035	124.67266		
3.03200	157.00000	126.29417		
3.18900	157.00000	125.25396		
3.34650	178.70035	121.85796		
3.50100	178.70035	121.88856		
3.65650	157.00000	124.82563		
3.81400	160.00000	125.65169		
3.97400	156.50000	122.28629		
4.13050	156.50000	119.41040		
4.28700	159.50000	123.38769		
4.44650	159.50000	125.46812		
4.60600	161.00000	123.57126		
4.76700	158.50000	119.83873		
4.92550	158.50000	122.68402		
5.08400	164.00000	125.92704		
5.24800	167.00000	125.52931		
5.41500	159.00000	122.04153		
5.57400	161.00000	123.72423		
5.73500	162.50000	126.26358		

**FIGURA 18.** Arquivo com formato .txt gerado através do tacograma construído a partir do registro da pressão arterial pulsátil. A coluna da esquerda representa o tempo, a coluna do meio representa o intervalo entre os picos sistólicos (ms) e a coluna da direita os valores da pressão arterial sistólica (mmHg).

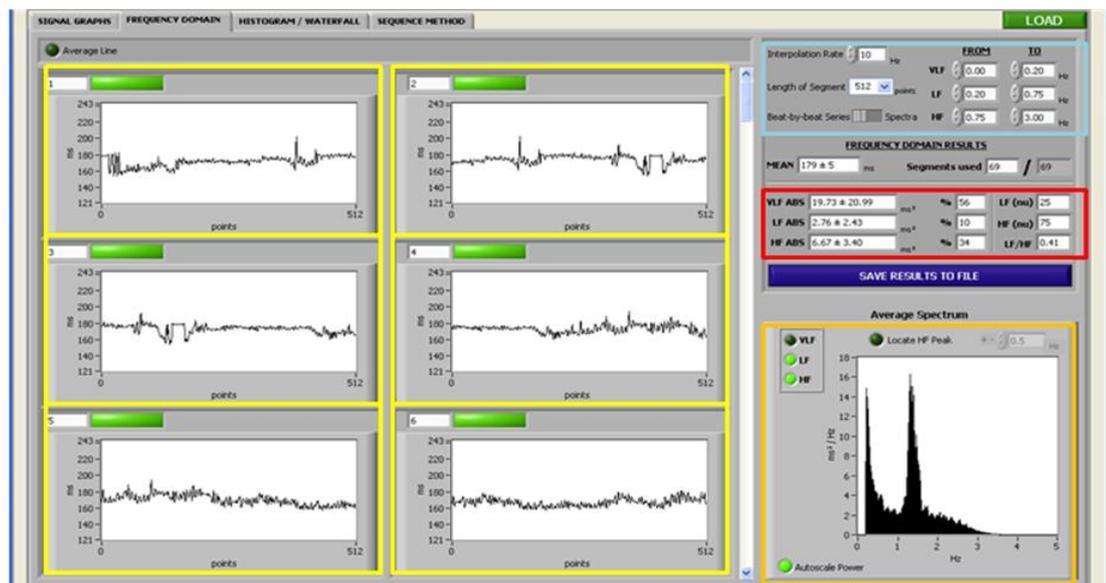
### 2.7.3 Análise da variabilidade cardiovascular no domínio do tempo e no domínio da frequência

Os arquivos .txt com os valores dos intervalos entre os picos sistólicos e da pressão arterial sistólica foram lidos no software CARDIOSERIES versão 1.2. Este software gera os parâmetros de variabilidade no domínio do tempo: média, desvio padrão e variância (FIGURA 19).



**FIGURA 19.** Programa CARDIOSERIES versão 1.2. A tela inicial do programa mostra os parâmetros da variabilidade no domínio do tempo. O painel superior mostra os valores do intervalo de pulso (ms) e o painel inferior mostra a pressão arterial sistólica (mmHg) em função do tempo (segundos).

Na segunda página do software CARDIOSERIES são gerados os valores dos parâmetros de variabilidade cardiovascular no domínio da frequência (FIGURA 20).



**FIGURA 20.** Programa CARDIOSERIES versão 1.2. Nos painéis numerados de 1 a 6 (à esquerda), estão representados os parâmetros da variabilidade no domínio da frequência em segmentos de 512 pontos (Em amarelo; o trecho analisado é dividido em subtrechos de 512 pontos). Na parte superior e à direita, estão representados a taxa de interpolação e o tamanho do segmento (Em azul). Logo estão representadas as larguras das bandas de muito baixa, baixa e alta frequência (Em vermelho). Na parte inferior e à direita, está representado um gráfico da densidade espectral calculada como a média da densidade dos seis segmentos analisados (Em laranja). O gráfico mostra um pico na banda de baixa frequência e um pico na banda de alta frequência. Os dados são referentes à análise da variabilidade da frequência cardíaca de um rato Wistar durante o repouso em ambiente temperado.

Foram realizadas análises no domínio do tempo e da frequência em condições de repouso usando um período de 30 minutos selecionados a partir do registro contínuo da pressão arterial após a estabilização dos parâmetros cardiovasculares. Os valores da pressão arterial sistólica foram utilizados para a análise espectral em função da associação entre a variabilidade da pressão sistólica e a função simpática vasomotora (YOSHIMOTO *et al.*, 2011). Durante o exercício, nós utilizamos os registros dos 6 minutos que precederam a interrupção do exercício (em decorrência do baixo tempo de corrida dos ratos DSA no ambiente quente [ $14 \pm 1$  min]).

A densidade espectral foi obtida por meio da transformação rápida de Fourier e o tamanho do segmento foi fixado em 512 pontos com 50% de sobreposição. Os componentes espectrais, para as bandas de muito baixa (MBF; 0,0195 – 0,25 Hz; ), baixa (BF; 0,27 – 0,74 Hz) e alta-frequência (AF; 0,76 - 5 Hz) foram avaliadas usando as larguras de bandas que foram previamente descritas por Cerutti *et al.* (1994). Os componentes são indicadores da atividade autonômica. A variabilidade dos componentes da pressão arterial sistólica indicam: MBF – atividade simpática vascular (Radaelli *et al.*, 2006); BF – atividade simpática vascular (WAKI *et al.*, 2006); HF – atividade simpática cardíaca e atividade ventilatória (YOSHIMOTO *et al.*, 2011). E, A variabilidade dos componentes da frequência cardíaca indicam: MBF – modulação autonômica mediada pelo barorreflexo (DWORKIN e DWORKIN *et al.*, 2000); BF – modulação autonômica mediada pelo barorreflexo (GOLDSTEIN *et al.*, 2011); HF – atividade parassimpática cardíaca mediada pelo barreflexo e atividade ventilatória (GOLDSTEIN *et al.*, 2011)

## 2.8 Medidas e cálculos

A temperatura intraperitoneal ( $T_{int}$ ) foi estabelecida como um índice da temperatura corporal interna e foi medida por telemetria. A temperatura da pele da cauda ( $T_{cauda}$ ) foi medida na superfície lateral a ~1cm da base da cauda por meio de um termossensor. Para a medida da temperatura ambiente, foi fixado um termoossensor no teto da caixa acrílica da esteira. Os valores da  $T_{int}$  foram registrados a cada 10 segundos, enquanto a  $T_{cauda}$  e temperatura dentro da esteira

foram medidas a cada minuto durante as sessões de repouso e exercício. Em função dos resultados obtidos durante o protocolo de exercício com velocidade constante, os parâmetros termorregulatórios não foram medidos durante o exercício com aumentos progressivos da velocidade.

A pressão arterial média (PAM), pressão arterial sistólica (SAP), pressão arterial diastólica (PAD) e frequência cardíaca (FC) foram medidas a partir dos registros da pressão arterial pulsátil. O duplo produto, um índice do trabalho do miocárdio, foi calculado como  $PAS \cdot FC / 1000$ .

## 2.9 Eutanásia dos animais

Após o último dia de experimentos, os animais foram eutanasiados por meio de uma dose letal de anestésico (Ketamina e xilazina; 270 e 31,5 mg/kg, via intra-venosa).

## 2.10 Análise estatística

Os dados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média. A comparação da sensibilidade barorreflexa entre os grupos experimentais (DSA vs. CON) foi realizada por meio do teste *t* de Student não pareado. Os parâmetros associados com a variabilidade da pressão arterial e da frequência cardíaca e os índices de desempenho físico (velocidade máxima na esteira e tempo total de exercício) foram comparados por meio de análise de variância com dois fatores (ANOVA). As alterações nos ajustes cardiovasculares e termorregulatórios entre os grupos experimentais e ao longo do tempo também foram comparadas por meio de análise de variância com dois fatores, com medidas repetidas aplicadas apenas para o fator tempo. O teste *post-hoc* Student-Neuman-Keuls foi utilizado para as comparações múltiplas. As curvas que descrevem o percentual de ratos correndo em um dado tempo de exercício foram comparadas entre os grupos e situações experimentais por meio do teste logrank (BLAND e ALTMAN, 2004; WANNER *et al.*, 2012). O nível de significância adotado foi  $P < 0,05$ .

### 3. RESULTADOS

A desnervação sino-aórtica reduziu a sensibilidade barorreflexa tanto a fenilefrina quanto ao nitroprussiato de sódio em aproximadamente 95% (TABELA 1). Os ratos submetidos à DSA também apresentaram maior frequência cardíaca durante o repouso e diminuição exacerbada da pressão arterial em resposta à injeção de nitroprussiato quando comparados ao grupo controle. Juntas, estas respostas indicam que a DSA foi efetiva.

**TABELA 1**

Valores de repouso dos parâmetros cardiovasculares e da sensibilidade barorreflexa às injeções intravenosas de agentes vasoativos em ratos submetidos à desnervação sino-aórtica crônica (DSA) ou cirurgia fictícia (CON).

Parâmetros	CON (n = 14)	DSA (n = 14)
PAM (mmHg)	113 ± 3	112 ± 5
FC (bpm)	358 ± 12	426 ± 13**
Fenilefrina i.v.		
Δ PAM	36 ± 3	41 ± 4
Δ FC	- 92 ± 12	- 5 ± 2**
Δ FC/Δ PAM	- 2,51 ± 0,14	- 0,12 ± 0,06**
Nitroprussiato i.v.		
Δ PAM	- 26 ± 2	- 46 ± 6*
Δ FC	68 ± 7	3 ± 2**
Δ FC/Δ PAM	- 2,77 ± 0,32	- 0,10 ± 0,06**

PAM = pressão arterial média; FC = frequência cardíaca; Os valores são apresentados como média ± EPM. \* $P < 0,01$  e \*\* $P < 0,001$  comparado ao grupo controle.

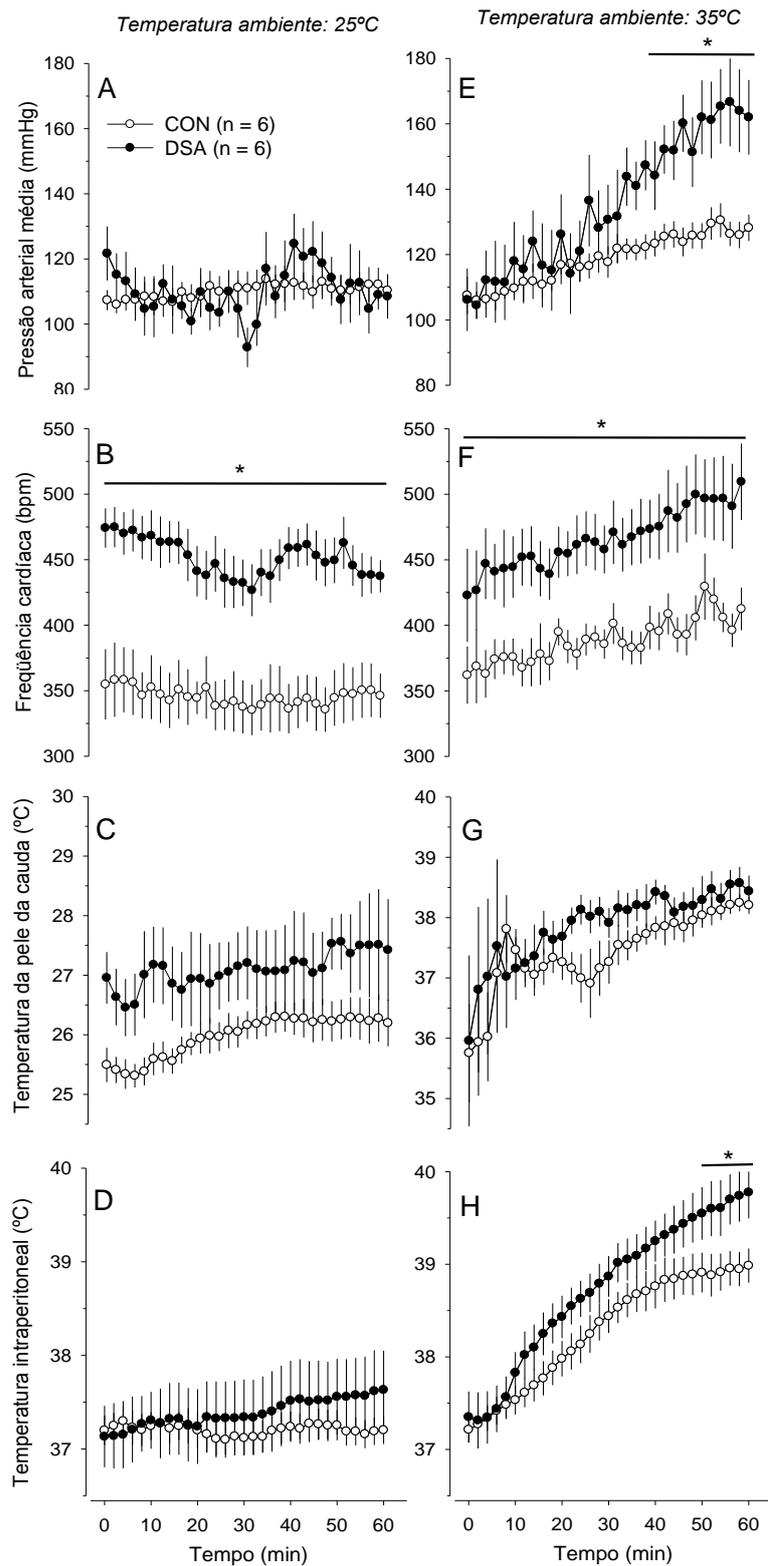
#### 3.1 Efeitos da DSA nos ajustes cardiovasculares e termorregulatórios durante o repouso em ambiente temperado e quente

Como esperado, o valor médio da pressão arterial média durante o repouso no ambiente temperado não foi diferentes entre os dois grupos experimentais. Por outro lado, a labilidade da pressão arterial inferida pelo cálculo do desvio padrão foi

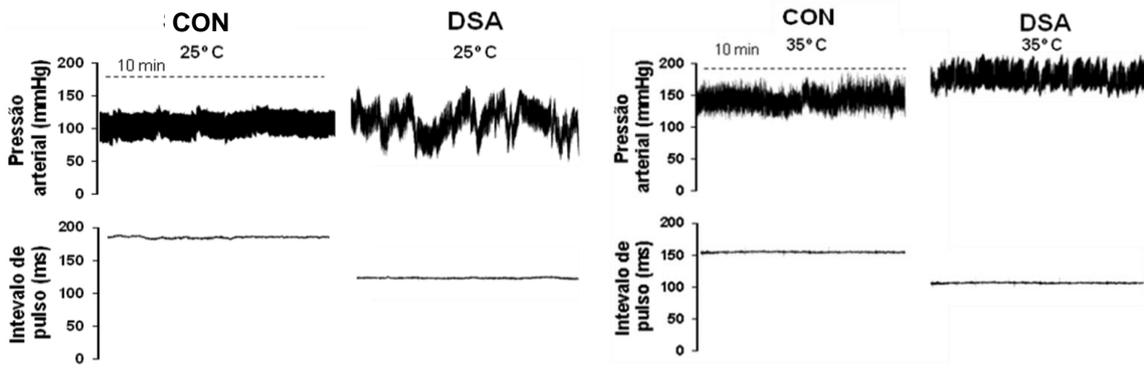
maior nos animais do grupo DSA quando comparados ao grupo CON ( $15 \pm 3$  mmHg vs.  $5 \pm 1$  mmHg; durante 60 min;  $P < 0,02$ ; FIGURA 21A). Simultaneamente ao aumento da variabilidade da pressão arterial induzido pela desnervação, a frequência cardíaca foi maior no grupo DSA quando comparado ao grupo CON durante todo o período de repouso ( $437 \pm 12$  bpm vs.  $346 \pm 17$  bpm, no minuto 60;  $P < 0,05$ ; FIGURA 21B). A Figura 23 mostra dois registros típicos de ratos do grupo DSA e do grupo controle mostra os registros da pressão pulsátil e do intervalo de pulso durante o repouso nos ambientes temperado e quente.

As temperaturas da pele da cauda e intraperitoneal permaneceram inalteradas durante todo o período de repouso em ambos os grupos experimentais, embora a variabilidade da temperatura da pele da cauda tenha sido maior nos ratos DSA comparados aos CON ( $0,73 \pm 0,09^\circ\text{C}$  vs.  $0,40 \pm 0,06^\circ\text{C}$ ;  $P < 0,02$ ; FIGURA 21C). As temperaturas ambientais na quais os experimentos foram realizados não foram diferentes entre os dois grupos experimentais ( $24,8 \pm 0,5^\circ\text{C}$  DSA vs.  $24,9 \pm 0,3^\circ\text{C}$  CON).

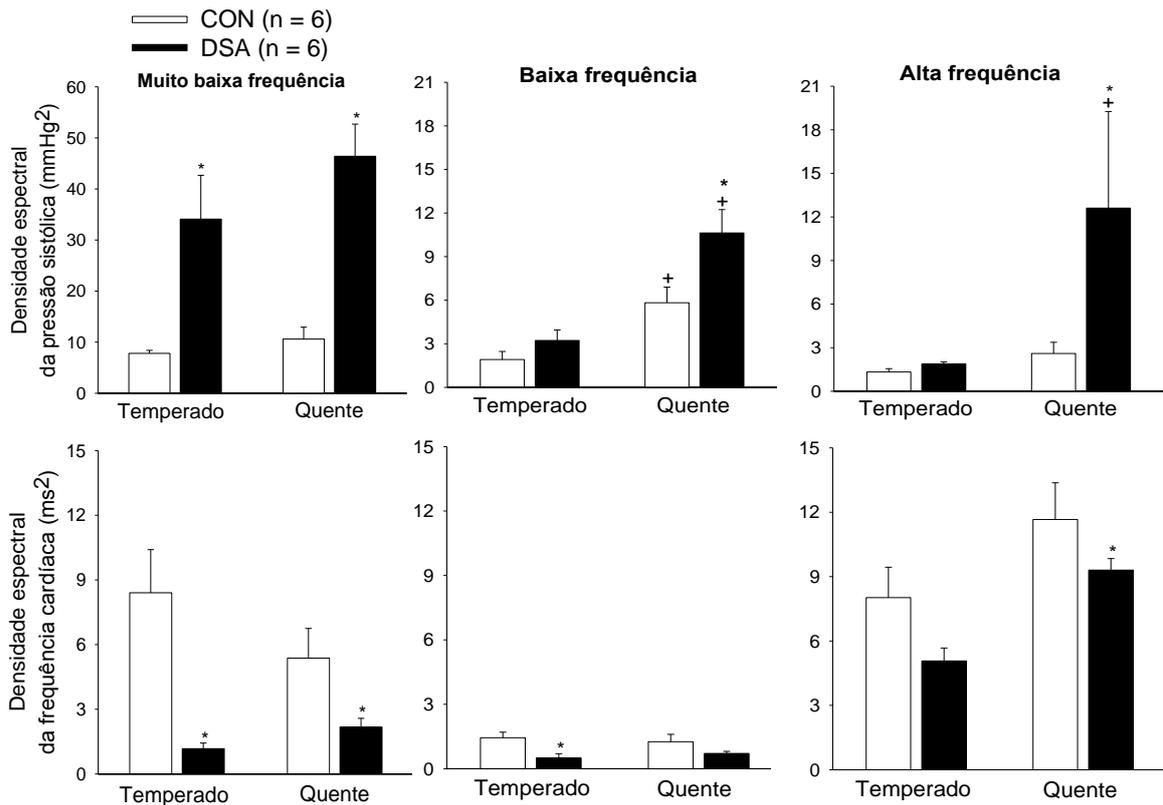
Como ilustrado na Figura 22E, a DSA induziu um aumento na pressão arterial média após 40 minutos de aquecimento passivo ( $162 \pm 11$  mmHg vs.  $128 \pm 4$  mmHg; no minuto 60 de exposição ao calor;  $P < 0,05$ ) e um aumento da labilidade comparado com o grupo CON ( $23 \pm 3$  mmHg vs.  $9 \pm 2$  mmHg; durante 60 min;  $P < 0,01$ ). Como observado no ambiente temperado, a frequência cardíaca dos ratos DSA persistiu maior do que no grupo CON durante todo o protocolo de aquecimento passivo (FIGURA 21F), sem alterar sua variação ao longo do tempo. A temperatura da pele da cauda não foi diferente entre os dois grupos experimentais (FIGURA 21G); entretanto, nos últimos cinco minutos do protocolo de aquecimento passivo, a temperatura intraperitoneal foi maior nos animais DSA quando comparados com os controles ( $39,8 \pm 0,3^\circ\text{C}$  vs.  $39,0 \pm 0,2^\circ\text{C}$ , no minuto 60;  $P < 0,05$ ; FIGURA 21H). Não foram observadas diferenças na temperatura ambiente quando grupo DSA foi comparado com o grupo CON ( $35,1 \pm 0,5^\circ\text{C}$  DSA vs.  $35,4 \pm 0,3^\circ\text{C}$  CON).



**FIGURA 21.** Efeitos da desnervação sino-aórtica (DSA; n = 6) ou cirurgia fictícia (CON; n = 6) na pressão arterial média (A e E), na frequência cardíaca (B e F), na temperatura da pele da cauda (C e G) e na temperatura intraperitoneal (D e H) de ratos durante o repouso em ambiente temperado (25°C) e quente (35°C). Os valores são apresentados como média  $\pm$  EPM. \*  $P < 0,05$  comparado ao grupo CON.

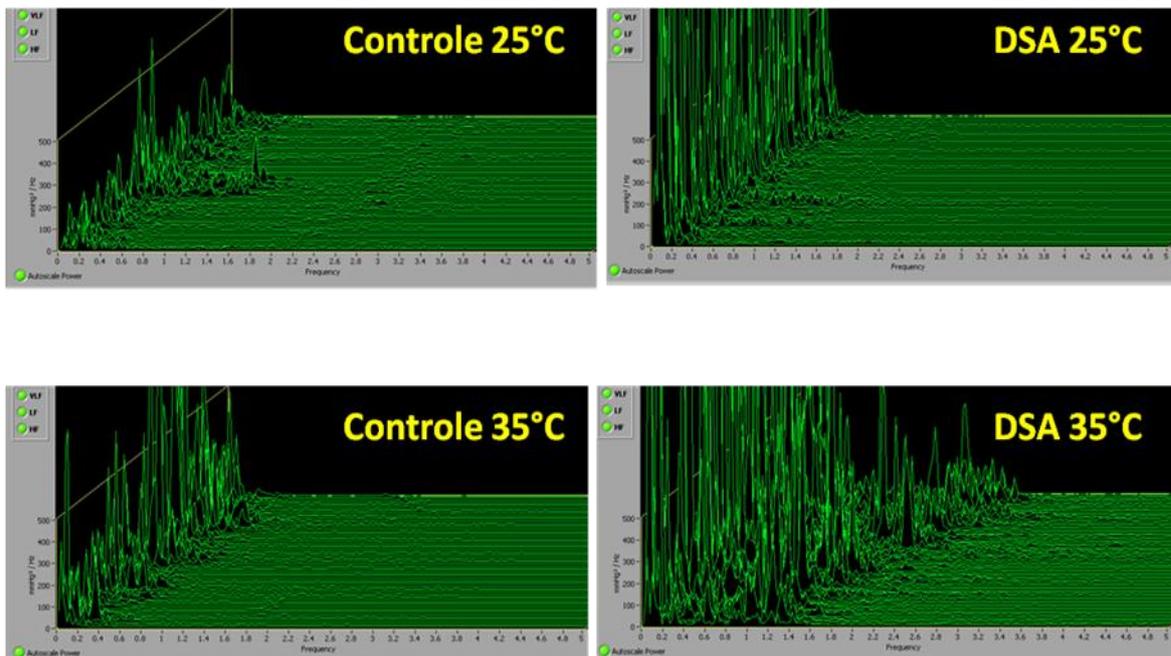


**FIGURA 22.** Registros da pressão arterial pulsátil e da frequência cardíaca de dois ratos conscientes submetidos à desnervação sino-aórtica crônica (DSA) e à cirurgia controle (CON), respectivamente, durante a exposição ao ambiente temperado (25° C) e quente (35° C).



**FIGURA 23.** Efeitos da desnervação sino-aórtica (DSA; n = 6) ou cirurgia fictícia (CON; n = 6) na densidade espectral da pressão sistólica e da frequência cardíaca durante o repouso. Os valores são apresentados como média  $\pm$  EPM. \*  $P < 0,05$  comparado ao grupo CON.

A Figura 23 apresenta os parâmetros associados com a variabilidade da pressão arterial sistólica e da frequência cardíaca em repouso tanto nos ratos desnervados quanto nos controles nos ambientes temperado e quente. Como inferido pelos valores do desvio padrão, a DSA aumentou a variabilidade da pressão arterial sistólica quando os ratos estavam em repouso. No ambiente temperado, a densidade espectral do componente MBF da pressão sistólica foi maior nos animais DSA comparados aos controles, enquanto os componentes MBF e BF do espectro da variabilidade da frequência cardíaca foram diminuídos pela DSA. Durante o aquecimento passivo, os componentes MBF, BF e AF da variabilidade da pressão sistólica foram aumentados pela DSA. Na direção oposta, a densidade espectral dos componentes MBF e AF do espectro de variabilidade da frequência cardíaca foi menor nos ratos DSA quando comparados aos controles. A Figura 24 mostra registros típicos da densidade espectral da pressão arterial sistólica de dois animais durante o repouso em ambiente temperado e durante o aquecimento passivo.

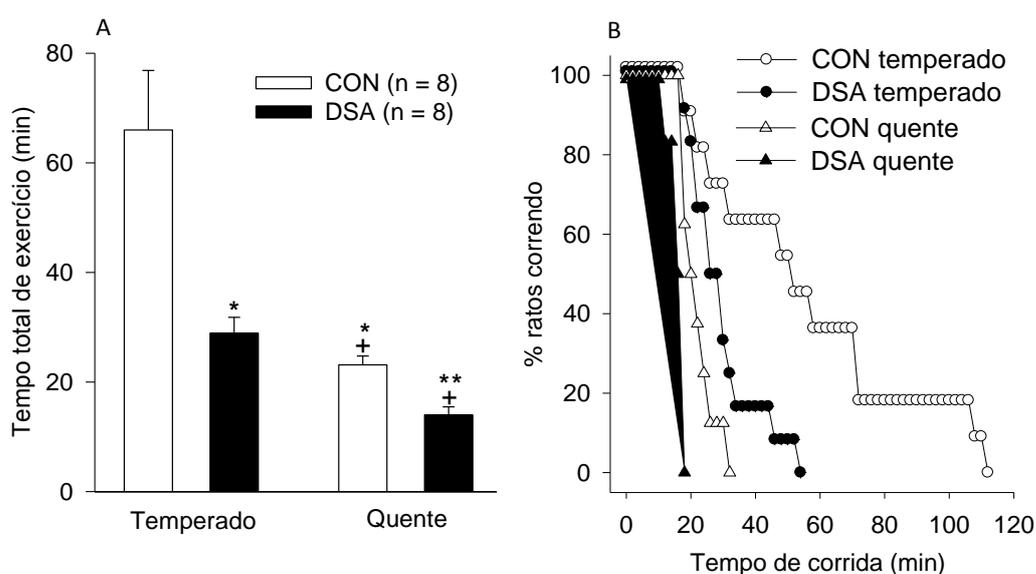


**FIGURA 24.** Efeitos da desnervação sino-aórtica (DSA) ou cirurgia fictícia (CON) na densidade espectral da pressão arterial sistólica durante o repouso em ambiente temperado e durante o aquecimento passivo.

### 3.2 Efeitos da DSA no desempenho físico e nos ajustes cardiovasculares e termorregulatórios durante o exercício com velocidade constante nos ambientes temperado e quente

Como mostrado na Figura 25A, a desnervação sino-aórtica reduziu em 56% o tempo de corrida até a fadiga durante o exercício com velocidade constante no ambiente temperado quando comparado com o procedimento controle ( $29 \pm 3$  min vs.  $66 \pm 11$  min;  $P < 0,01$ ). Como esperado, o desempenho de corrida no ambiente quente foi menor tanto no grupo controle quanto no grupo DSA comparado ao ambiente temperado (reduções de 52% e 66% para os ratos DSA e CON, respectivamente). Além disso, o desempenho de corrida dos ratos desnervados foi menor no ambiente quente quando comparado com os ratos controles ( $14 \pm 1$  min vs.  $23 \pm 2$  min;  $P < 0,001$ ).

Como ilustrado na Figura 25B, quando todos os ratos DSA já tinham interrompido o exercício no ambiente temperado, 45% dos animais CON ainda estavam correndo. Além disso, quando 62% dos ratos controles ainda se exercitavam no ambiente quente, todos os animais do grupo DSA já tinham interrompido o exercício. Não foram observadas diferenças nas massas corporais dos ratos DSA comparados com o grupo CON (temperado:  $319 \pm 8$  g DSA vs.  $307 \pm 9$  g,  $P = 0,32$ ; quente:  $322 \pm 9$  g DSA vs.  $310 \pm 9$  g,  $P = 0,35$ ).

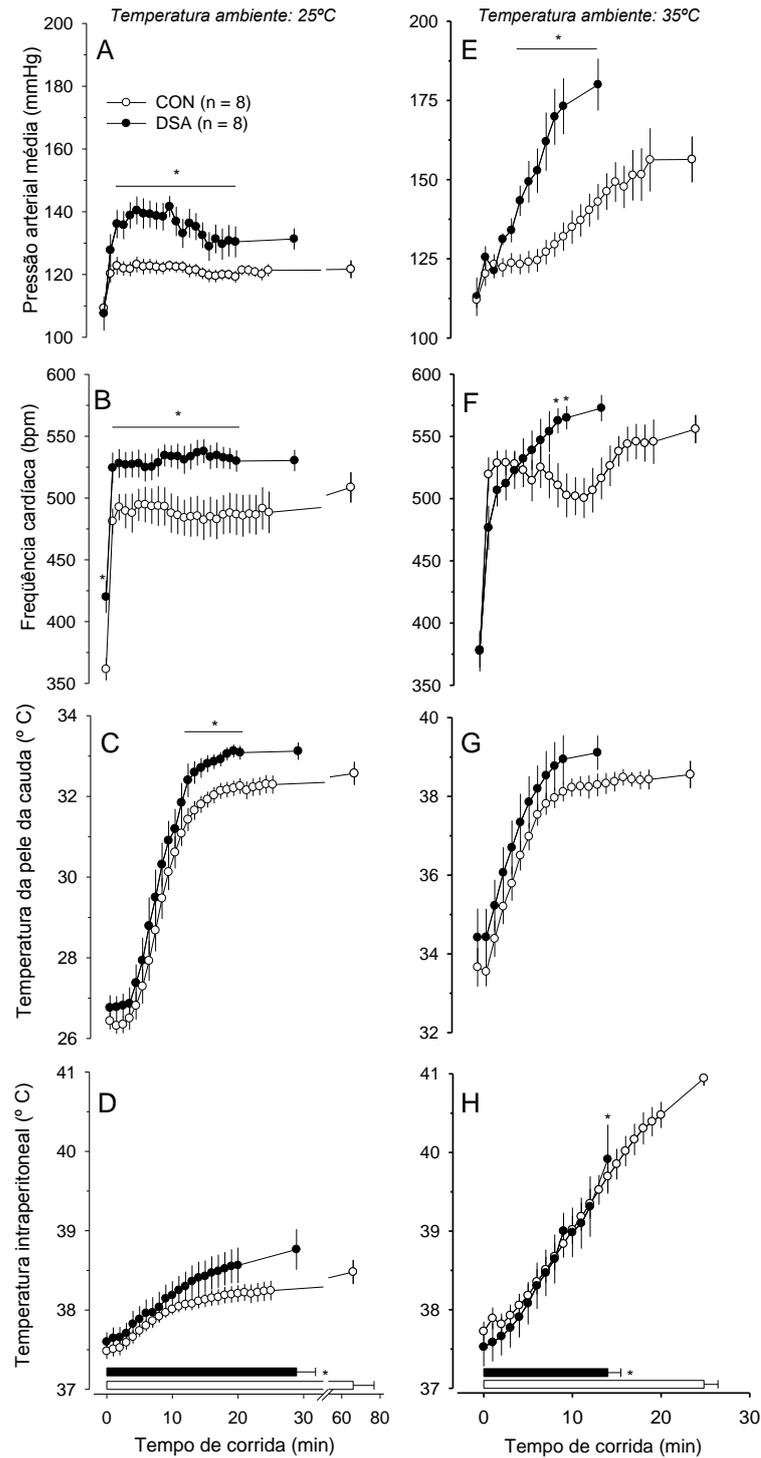


**FIGURA 25.** Efeitos da desnervação sino-aórtica (DSA; n = 8) ou cirurgia fictícia (CON; n = 8) sobre o tempo até a fadiga (A) durante o exercício com velocidade constante (18m/min; 5% de inclinação) em ratos. Os exercícios foram realizados em ambiente temperado ( $25,4 \pm 0,4^{\circ}\text{C}$  DSA vs.  $25,5 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$

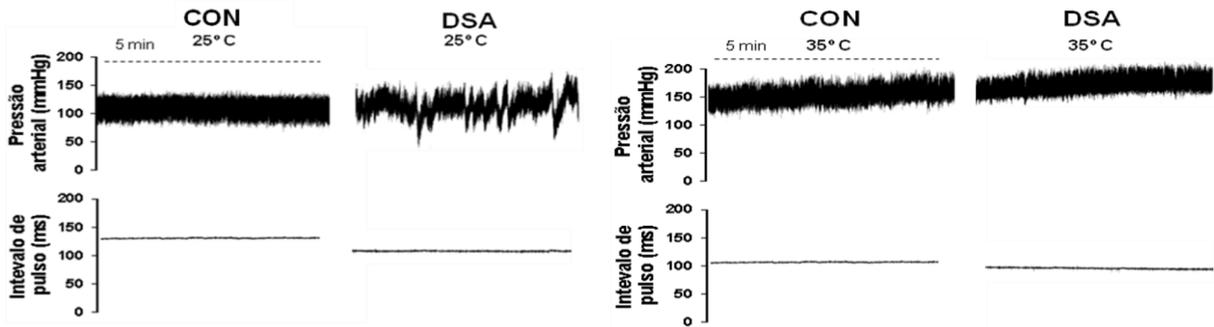
CON) e quente ( $35,1 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$  DSA vs.  $35,2 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$  CON). Os valores são apresentados como média  $\pm$  EPM. As curvas que descrevem o percentual de ratos correndo em um dado tempo de exercício foram comparadas por meio do teste logrank. +  $P < 0,05$  comparado à situação temperado. \*  $P < 0,01$  comparado ao grupo controle na mesma temperatura. \*\*  $P < 0,001$  comparado ao grupo controle na mesma temperatura. O painel B representa as curvas do tempo total de exercício realizado pelos ratos DSA ou CON submetidos ao exercício com velocidade constante nos dois ambientes.

As respostas cardiovasculares durante o exercício de velocidade constante estão ilustradas na Figura 26. Em  $25^{\circ}\text{C}$  a DSA exacerbou os aumentos induzidos pelo exercício na pressão arterial média a partir do terceiro minuto ( $136 \pm 4$  mmHg vs.  $122 \pm 2$  mmHg,  $P < 0,05$ ; FIGURA 26A) e na frequência cardíaca ( $527 \pm 10$  bpm vs.  $490 \pm 14$  bpm,  $P < 0,05$ ; FIGURA 26B) quando comparados ao grupo controle. Quanto às respostas termorregulatórias, a temperatura da pele foi maior no grupo DSA comparado com grupo CON (FIGURA 26C) nos minutos finais do exercício, enquanto a temperatura intraperitoneal não foi afetada pela DSA (FIGURA 26D). A Figura 27 mostra dois registros típicos de ratos do grupo DSA e do grupo controle mostra os registros da pressão pulsátil e do intervalo de pulso durante o exercício nos ambientes temperado e quente.

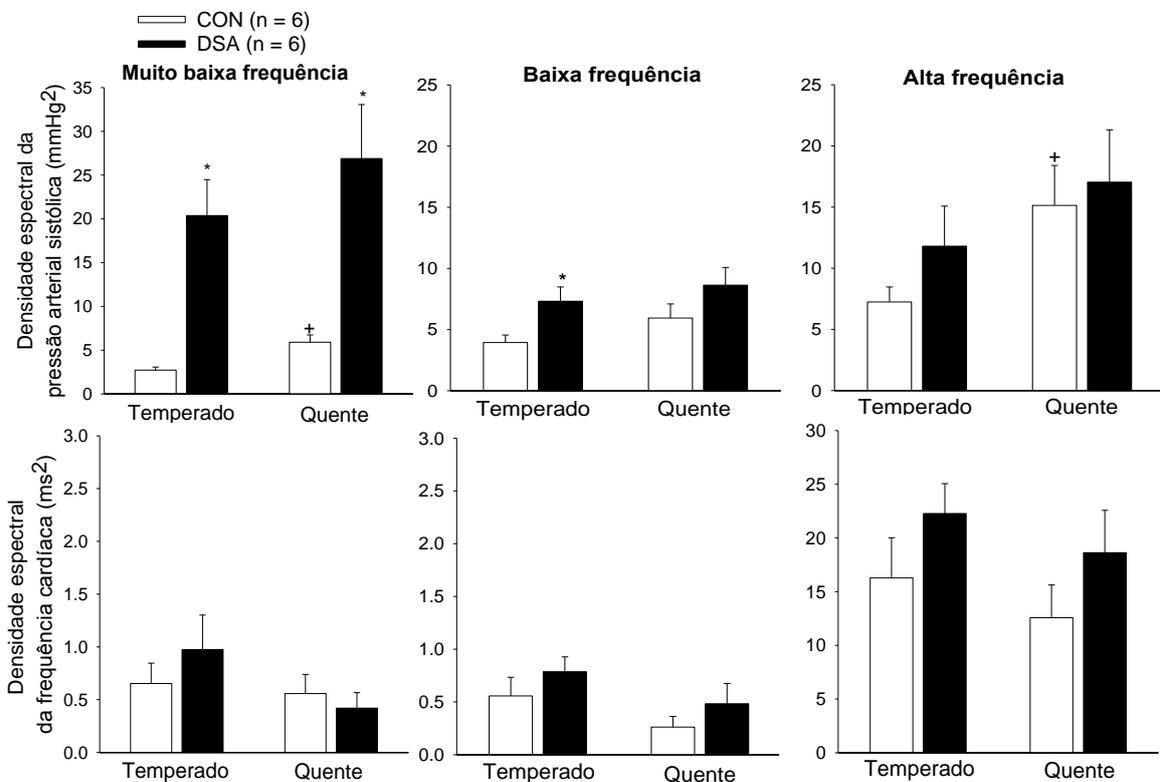
No ambiente quente, a pressão arterial média e a frequência cardíaca também foram maiores nos ratos desnervados comparados com os ratos controles (pressão arterial média:  $157 \pm 7$  mmHg vs.  $127 \pm 4$  mmHg, no sexto minuto; FIGURA 26E; frequência cardíaca:  $565 \pm 9$  bpm vs.  $503 \pm 18$  bpm, FIGURA 26F; no décimo minuto de exercício;  $P < 0,05$ ). Não houve diferenças significativas nos aumentos induzidos pelo exercício nas temperaturas da pele e intraperitoneal entre os grupos experimentais (FIGURA 26G e H) durante o exercício. Entretanto, na interrupção do exercício, a temperatura intraperitoneal foi menor nos ratos DSA comparados com os animais controles ( $39,9 \pm 0,4^{\circ}\text{C}$  vs.  $40,9 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ ;  $P < 0,05$ ; FIGURA 26H).



**FIGURA 26.** Perfil temporal das alterações induzidas pelo exercício na pressão arterial média (A e C), na frequência cardíaca (B e D), na temperatura da pele da cauda (E e G) e na temperatura intraperitoneal (F e H) em ratos que foram previamente submetidos à desnervação sino-aórtica ( $n = 8$ ) ou cirurgia fictícia como controle ( $n = 8$ ). Os exercícios foram realizados em ambiente temperado ( $25,4 \pm 0,4^{\circ}\text{C}$  DSA vs.  $25,5 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$  CON) e quente ( $35,1 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$  DSA vs.  $35,2 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$  CON). Os valores são apresentados como média  $\pm$  EPM. Os tempos de exercício até fadiga são indicados pelas barras horizontais. \*  $P < 0,05$  comparado ao grupo controle.



**FIGURA 27.** Registros da pressão arterial pulsátil e da frequência cardíaca de dois ratos conscientes submetidos à deservação sino-aórtica crônica (DSA) e à cirurgia controle (CON), respectivamente, durante o exercício em ambiente temperado (25° C) e quente (35°C).



**FIGURA 28.** Efeitos da deservação sino-aórtica (DSA; n = 6) ou cirurgia fictícia (CON; n = 6) na densidade espectral da pressão sistólica e da frequência cardíaca durante o exercício. Os valores são apresentados como média  $\pm$  EPM. \*  $P < 0,05$  comparado ao grupo CON.

Como mostrado na Figura 28, a variabilidade da pressão arterial sistólica, bem como os componentes MBF foram maiores no grupo DSA comparado ao grupo CON. Por outro lado, tanto a variabilidade da frequência cardíaca quanto os componentes espectrais não foram afetados pela DSA.

### 3.3 Efeitos da DSA no desempenho físico e nos ajustes cardiovasculares durante o exercício com aumentos progressivos na velocidade nos ambientes temperado e quente

A tabela 4 mostra o efeito das cirurgias (DSA, CON e canulações) sobre a velocidade máxima alcançada pelos ratos. A cirurgia fictícia não alterou a velocidade máxima de corrida. Por outro lado, a DSA reduziu em aproximadamente 20% a velocidade máxima alcançada. As canulações arterial e venosa não modificaram o desempenho nos dois grupos experimentais.

As massas corporais dos ratos DSA e CON não foram diferentes ao longo dos dias nos quais os testes progressivos foram realizados (antes das cirurgias:  $299 \pm 11$  g DSA vs.  $312 \pm 6$  g CON; após recuperarem das cirurgias:  $311 \pm 14$  g DSA vs.  $329 \pm 13$  g CON; após as canulações arterial e venosa:  $286 \pm 11$  g DSA vs.  $309 \pm 6$  g CON).

**TABELA 2**

Alterações no desempenho físico induzidos pela desnervação sino-aórtica (DSA) ou cirurgia fictícia (CON) durante os exercícios com aumentos progressivos da velocidade no ambiente temperado (25°C).

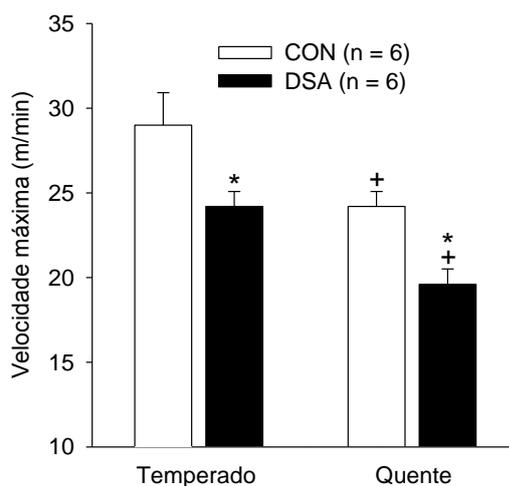
Condição	Velocidade máxima (m/min)	
	CON (n = 6)	DSA (n = 6)
Antes da DSA ou cirurgia fictícia (CON)	$30 \pm 1$	$31 \pm 1$
Após a DSA ou CON	$30 \pm 1$	$25 \pm 1^{*+}$
Após as canulações arterial e venosa	$29 \pm 2$	$24 \pm 1^*$

Os valores são apresentados como média  $\pm$  EPM. \*  $P < 0,05$  comparado ao grupo CON.

+  $P < 0,05$  comparado aos valores antes da DSA ou CON (para o mesmo grupo experimental).

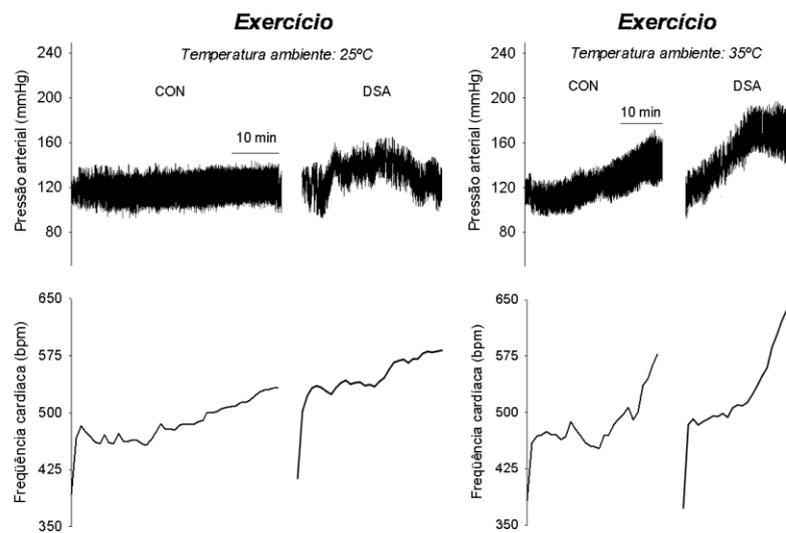
Como esperado, ocorreu uma redução induzida pelo calor no desempenho de corrida em ambos os grupos experimentais (FIGURA 29). No ambiente quente, os ratos CON e DSA apresentaram reduções de 21% e 17% no desempenho quando comparado ao mesmo exercício no ambiente temperado, respectivamente. Tanto no ambiente temperado quanto no calor, a velocidade máxima de corrida foi menor nos ratos DSA comparados com os ratos CON. A magnitude da redução do desempenho induzida pela DSA nos ambientes temperado e quente (~20%) foi duas vezes maior do que a variabilidade desse parâmetro [o coeficiente de variação (CV) no grupo

CON foi ~6,5% em 25°C e ~7,8% em 35°C]. De acordo com Hopkins *et al.* (2001), quando a magnitude da razão sinal/ruído (% de redução no desempenho/CV) for maior que 2,0, a confiabilidade do teste utilizado para comparar o desempenho físico foi elevada. Nos dois ambientes testados, foram encontradas razões sinal/ruído com valores maiores que 2,0, indicando um forte efeito da DSA no desempenho de corrida.



**FIGURA 29.** Efeitos da desnervação sino-aórtica (DSA; n = 8) ou cirurgia fictícia (CON; n = 8) sobre a velocidade máxima de corrida durante um teste com aumentos progressivos da velocidade da esteira. Os exercícios foram realizados em ambiente temperado e quente. Os valores são apresentados como média  $\pm$  EPM. +  $P < 0,05$  comparado à situação temperado. \*  $P < 0,01$  comparado ao grupo controle na mesma temperatura.

Na Figura 30 estão apresentados os registros da pressão arterial e da frequência cardíaca de um rato que representa cada grupo experimental nos ambientes temperado e quente. O rato submetido à DSA apresentou maiores variações na pressão arterial média e na frequência cardíaca induzidos pelo exercício nos dois ambientes avaliados comparado ao rato controle, a despeito da interrupção antecipada do esforço (TABELA 3). A frequência cardíaca máxima registrada durante o exercício foi maior nos ratos desnervados quando comparados aos controles ( $593 \pm 5$  bpm vs.  $533 \pm 13$  bpm;  $P < 0,05$ ; em 25°C). Este efeito taquicárdico induzido pela DSA foi amplificado pelo exercício no calor ( $639 \pm 6$  bpm vs.  $553 \pm 19$  bpm;  $P < 0,05$ ; em 35°C). Em função da ausência de efeitos induzidos pela DSA sobre as variáveis termorregulatórias durante o exercício com velocidade constante, estas não foram medidas durante o protocolo experimental de exercício com aumentos progressivos da velocidade.



**FIGURA 30.** Registros representativos da pressão arterial e da frequência cardíaca de dois ratos durante o exercício com aumentos progressivos da velocidade até a fadiga nos ambientes temperado (25°C) e quente (35°C). Os registros são de ratos que foram previamente submetidos à desnervação sino-aórtica (DSA) ou cirurgia fictícia (CON).

**TABELA 3**

Parâmetros cardiovasculares em ratos submetidos à desnervação sino-aórtica (DSA) ou cirurgia fictícia (CON) durante o exercício com aumentos progressivos da velocidade em ambiente temperado (25°C) e quente (35°C).

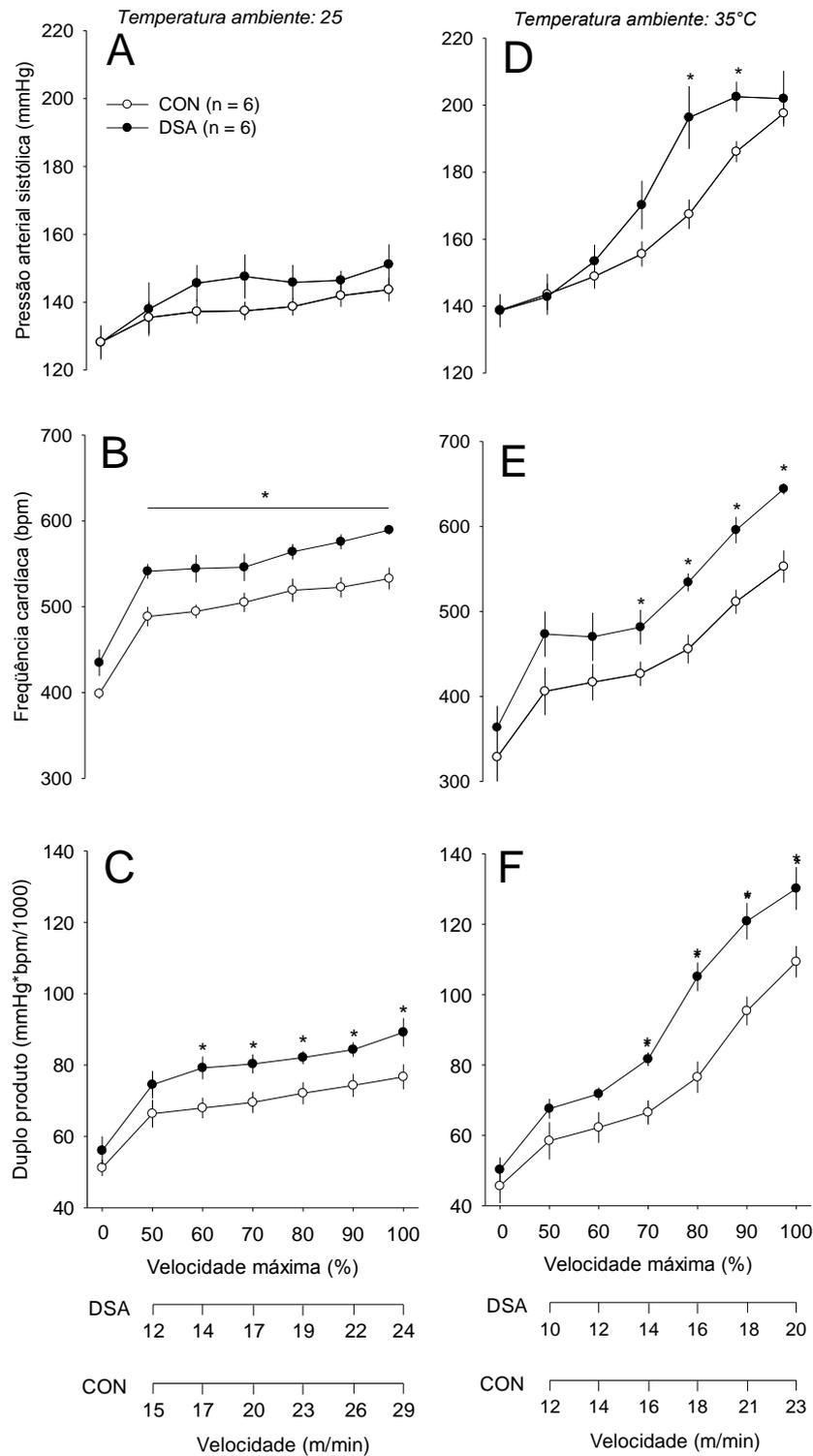
Parâmetros	Temperado		Quente	
	CON (n = 6)	DSA (n = 6)	CON (n = 6)	DSA (n = 6)
$\Delta$ PAM (mmHg)	10 $\pm$ 2	22 $\pm$ 7*	51 $\pm$ 4	70 $\pm$ 8*
$\Delta$ PAS (mmHg)	15 $\pm$ 2	24 $\pm$ 7	59 $\pm$ 3	67 $\pm$ 7
$\Delta$ PAD (mmHg)	8 $\pm$ 3	19 $\pm$ 7	52 $\pm$ 4	71 $\pm$ 3*
$\Delta$ FC (bpm)	134 $\pm$ 7	180 $\pm$ 11*	224 $\pm$ 26	325 $\pm$ 12*

$\Delta$  = valor no momento da interrupção do exercício - valor pré-exercício; PAM = pressão arterial média; PAS = pressão arterial sistólica; PAD = pressão arterial diastólica; FC = frequência cardíaca

\* P < 0,05 em relação ao grupo controle.

A Figura 31 mostra as respostas cardiovasculares nos grupos DSA e CON em função da intensidade relativa do exercício. A DSA não alterou o aumento da pressão sistólica em função do percentual da velocidade máxima em 25°C (FIGURA 31A). O aumento da frequência cardíaca induzido pelo exercício na esteira foi mais pronunciado nos animais desnervados a partir de 50% até a interrupção do esforço (FIGURA 31B). Assim, o trabalho do miocárdio (como inferido pelo duplo produto) foi

maior nos ratos DSA comparados aos CON ( $89 \pm 4$  bpm·mmHg/1000 vs.  $77 \pm 3$  bpm·mmHg/1000, em 100% da velocidade máxima;  $P < 0,05$ ; FIGURA 30C). No ambiente quente, a magnitude das respostas da pressão arterial sistólica e da frequência cardíaca foi maior nos animais DSA quando comparados aos ratos CON (FIGURA 31D e E) levando ao maior duplo-produto ( $130 \pm 6$  bpm·mmHg/1000 vs.  $109 \pm 4$  bpm·mmHg/1000 em 100% da velocidade máxima de exercício;  $P < 0,05$ ; FIGURA 30F).



**FIGURA 31.** Alterações na pressão arterial sistólica (A e D), frequência cardíaca (B e E) e duplo produto (C e F) induzidas pelo exercício com velocidade progressiva em ratos que foram previamente submetidos à desnervação sino-aórtica (DSA; n = 6) ou cirurgia fictícia (CON; n = 6). Os valores são apresentados como média  $\pm$  EPM. \*  $P < 0,05$  comparado ao grupo controle.

### **3.4 Resumo dos resultados principais**

Em resumo, nós demonstramos que a baro-deaferentação nos ratos 1) antecipou a fadiga durante o exercício com velocidade constante nos ambientes temperado e quente, 2) exacerbou os aumentos da pressão arterial e da frequência cardíaca, 3) afetou minimamente a regulação da temperatura corporal, 4) aumentou a variabilidade da pressão arterial sem afetar a variabilidade da frequência cardíaca, 5) reduziu a capacidade máxima de exercício medida durante um teste de esforço progressivo e 6) produziu resposta cardiovascular exagerada para um dada intensidade relativa de exercício.

## 4. DISCUSSÃO

O principal achado do presente estudo foi que a remoção dos barorreceptores arteriais antecipou a fadiga durante o exercício nos ambientes temperado e quente. A redução do desempenho físico mediada pela DSA durante os exercícios com velocidade constante e progressiva ocorreram em paralelo com aumentos no esforço cardiovascular e na variabilidade da pressão arterial.

Em detrimento aos efeitos induzidos pela DSA na regulação cardiovascular, os ajustes termorregulatórios foram minimamente afetados pela remoção das aferências provenientes dos barorreceptores. Portanto, nossos dados demonstraram que o desempenho físico nos ambientes temperado e quente depende das aferências dos barorreceptores arteriais e que a antecipação da fadiga observada nos ratos DSA foi possivelmente uma consequência das alterações no comando central para o exercício (inferidas pelas alterações da modulação autonômica cardiovascular).

### 4.1 Respostas induzidas pelo aquecimento passivo

As respostas cardiovasculares dos ratos desnervados foram investigadas durante o aquecimento passivo, um protocolo experimental no qual a hipertermia é consequência do ganho de calor do ambiente, independente de alterações no metabolismo (KREGEL e GISOLFI, 1990). Nós observamos que os animais DSA exibiram aumentos exacerbados da pressão arterial e da temperatura interna comparados com os animais controles, quando ambos os grupos foram expostos ao calor (FIGURA 21E-H). Nossos dados estão de acordo com os resultados prévios do estudo de Kregel *et al.* (1990) que demonstraram aumentos de três a quatro vezes maiores na pressão arterial e na frequência cardíaca nos ratos submetidos à DSA comparados com os ratos controles quando esses foram expostos ao ambiente quente. Em adição, estes autores observaram uma elevação cinco vezes maior na concentração plasmática de noradrenalina, indicando maior atividade simpática. Nossos dados corroboram esses achados uma vez a remoção das aferências dos barorreceptores aumentou a densidade espectral dos componentes de muito baixa e

baixa frequência da pressão arterial sistólica (FIGURA 23). Os aumentos nesses componentes indicam que a atividade simpática vascular foi maior nos ratos DSA em resposta ao aquecimento passivo. Esta afirmação é sustentada por estudos prévios mostrando: 1) a infusão de catecolaminas em ratos conscientes aumenta a densidade do componente MBF da pressão arterial sistólica, por meio da ativação dos receptores  $\alpha_2$  (RADAELLI *et al.*, 2006); 2) o aumento da variabilidade da pressão arterial após a DSA é atenuado pela injeção intravenosa de um inibidor da transmissão simpática ganglionar (DWORKIN *et al.*, 2000). 3) existe uma correlação positiva entre a atividade simpática lombar e o componente BF da pressão arterial sistólica de ratos em repouso (WAKI *et al.*, 2006).

Em contraste ao aumento da variabilidade da pressão arterial, foi observada uma diminuição tanto da variabilidade quanto do componente MBF da frequência cardíaca nos ratos DSA durante o aquecimento passivo; resultado semelhante foi encontrado no estudo de Tang e Dworkin (2009), que encontraram simultaneamente aumento no componente MBF da pressão arterial e diminuição deste componente no espectro da frequência cardíaca. Estes autores concluíram que a efetividade barorreflexa máxima em modular o sistema autonômico para ajustar a pressão arterial ocorre na extensão de muito baixa frequência. No presente estudo a DSA resultou em diminuição da variabilidade da densidade do espectro da frequência cardíaca. Anteriormente, foi proposto que as oscilações do componente de baixa frequência da frequência cardíaca são geradas pela atividade simpática cardíaca, modulada tanto centralmente quanto reflexamente. Entretanto a redução da variabilidade da frequência cardíaca após a DSA encontrada em estudos prévios, que foi reproduzida em nosso experimento, mostra que as oscilações dos componentes espectrais da frequência cardíaca são geradas predominantemente por meio da modulação autonômica mediada pela estimulação dos barorreceptores. Esta observação contribuiu para uma mudança no conceito de que a variabilidade da frequência cardíaca é uma medida do tônus simpático cardíaco para a idéia de que esta variabilidade é gerada pela modulação barorreflexa das vias autonômicas cardíacas (GOLDSTEIN *et al.*, 2011).

Um achado inédito do presente estudo foi que a atividade simpática exacerbada dos ratos DSA é provavelmente específica a determinados territórios, uma vez que esta não estava aumentada nos vasos da pele, como inferido pela ausência de diferenças na temperatura da pele entre os dois grupos (FIGURA 23G).

Além disso, a hipertermia mais acentuada dos ratos DSA, mostrada previamente por KREGEL *et al.* (1990), não é uma consequência da dissipação de calor dificultada; as possíveis explicações alternativas (alterações na perda de calor por evaporação, na termorregulação comportamental ou na taxa metabólica) devem ser verificadas em experimentos futuros.

#### **4.2 Desempenho físico, respostas cardiovasculares e termorregulatórias durante o exercício com velocidade constante**

Nós submetemos os animais ao exercício com velocidade absoluta e constante para que a potência e a produção de calor (considerando a mesma eficiência mecânica) gerada pelos animais de ambos os grupos fosse elevada a um mesmo valor. A DSA reduziu o desempenho físico em 56% no ambiente temperado e em 39% no ambiente quente (FIGURA 25). Durante esses exercícios, o trabalho do miocárdio e as respostas vasculares foram exacerbadas pela remoção das aferências barorreflexas. Estes resultados fornecem evidências que a barodesnervação alterou a interação entre a informação aferente e resposta central eferente, levando à amplificação das respostas cardiovasculares nos ratos DSA submetidos ao exercício.

Resultados anteriores demonstraram que a modulação das respostas cardiovasculares durante o exercício depende do barorreflexo uma vez que a DSA: 1) produz maiores aumentos da pressão arterial tanto em ratos (WAKI *et al.*, 2003) quanto em humanos (SCHERRER *et al.*, 1990); 2) eliminou a relação entre a pressão arterial média e a condutância vascular regional (MARTÍNEZ-NIEVES *et al.*, 2000); 3) aumentou a condutância vascular ilíaca e reduziu a condutância mesentérica em ratos (COLLINS *et al.*, 2001). Os barorreceptores limitam o aumento da pressão arterial por meio da atenuação do aumento da atividade simpática induzido pela ativação do comando central e do reflexo pressor do exercício. Esta função dos barorreceptores sobre a atividade simpática foi demonstrada no nosso estudo quando a DSA aumentou os componentes de muito baixa e baixa frequência da pressão sistólica no ambiente temperado e de muito baixa frequência no ambiente quente (FIGURA 28). Particularmente durante o exercício no calor, uma

situação na qual o fluxo sanguíneo é redistribuído da circulação esplâncnica e renal para a pele e músculos (JOHNSON, 2010), estas alterações nas respostas podem explicar o aumento exacerbado da pressão arterial nos ratos DSA.

A falta de efeitos mediados pela DSA na variabilidade da frequência cardíaca durante o exercício indica que esta é primariamente modulada por mecanismos centrais, os quais estimulam, simultaneamente, os sistemas motor e cardiovascular (ROWELL e O'LEARY, 1990).

A DSA não afetou a temperatura interna, entretanto aumentou a dissipação cutânea de calor durante o exercício com velocidade constante no ambiente temperado. De fato, em experimentos preliminares, nós encontramos maior consumo de oxigênio nos ratos DSA em comparação aos ratos CON, indicando maior produção de calor (dados em anexo; pág. 71) Portanto, é possível inferir que a maior temperatura da cauda nos ratos DSA seja decorrente do maior estímulo térmico. Já no ambiente quente, a DSA não modificou os aumentos das temperaturas da pele e interna, sugerindo que a produção de calor tenha sido semelhante entre os grupos.

Uma observação importante é que os animais DSA alcançaram menores velocidades máximas durante os exercícios progressivos tanto no ambiente temperado quanto no calor (FIGURA 29), o que torna o exercício na velocidade constante de 18 m/min mais intensa para os ratos DSA comparados com os ratos CON. Portanto, a exacerbação das respostas cardiovasculares nos ratos DSA pode ser uma consequência da maior intensidade relativa da corrida do que o efeito da desnervação sino-aórtica por si. Para respondermos essa questão, nós medimos as respostas cardiovasculares durante o exercício com aumentos progressivos da velocidade, o que permitiu realizar as análises em função da intensidade relativa do exercício.

### **4.3 Desempenho físico e respostas cardiovasculares durante o exercício com aumentos progressivos da velocidade**

Como mencionado acima, a DSA reduziu a velocidade máxima alcançada durante os testes progressivos nas duas condições experimentais estudadas. Assim,

para verificarmos se a DSA de fato alterou o comando central para o sistema cardiovascular durante o exercício, as respostas da pressão arterial e da frequência cardíaca para uma dada intensidade relativa de exercício foram avaliadas (para esta análise, os valores registrados na velocidade máxima foram considerados como 100%). Nós observamos que a remoção das aferências barorreflexas produziu maiores aumentos da pressão arterial e da frequência cardíaca comparados com o grupo controle na mesma intensidade relativa do exercício. Portanto, é razoável assumir que a DSA alterou o comando central e conseqüentemente amplificou as respostas cardiovasculares ao exercício.

É importante notar que a remoção das baroaferências aumentou a frequência cardíaca máxima durante os testes progressivos nos ambientes temperado e quente (FIGURA 31). Esta maior frequência cardíaca registrada nos ratos DSA não é uma consequência da taquicardia em repouso e reflete um aumento exacerbado induzido pelo exercício progressivo (TABELA 5).

#### **4.4 Mecanismos de fadiga**

Nosso achado mais importante foi que a remoção das aferências barorreflexas reduziu o tempo de exercício até a interrupção voluntária do esforço (de 20 a 56%) em todas as quatro condições experimentais estudadas: exercícios com velocidade constante e com aumentos progressivos nos ambientes temperado e quente.

Durante o exercício com velocidade constante, a redução no desempenho dos ratos DSA foi acompanhada por maiores aumentos na pressão arterial (FIGURA 26A e E) e na frequência cardíaca (FIGURA 26B e F). Entretanto, considerando que os ratos DSA estavam se exercitando em maiores intensidades relativas (% da velocidade máxima) comparadas aos ratos controles (temperado: 72% DSA vs. 60% CON; quente; 90% DSA vs. 78% CON), nós não podemos correlacionar, sem ressalvas, a interrupção antecipada do esforço a quaisquer das respostas cardiovasculares exacerbadas; os ratos DSA provavelmente correram menos porque eles realizaram um esforço mais intenso. Esta limitação metodológica foi superada por meio da realização dos exercícios com aumentos progressivos da velocidade.

Em comparação aos ratos controles no seu esforço máximo, os ratos DSA alcançaram suas velocidades máximas com maiores valores de pressão arterial sistólica, frequência cardíaca e duplo produto, embora a potência máxima gerada fosse 20% menor em comparação aos ratos controles.

Tanto os ratos DSA quanto os controles apresentaram redução no desempenho físico no calor em comparação ao ambiente temperado. Este achado corrobora estudos mostrando que a capacidade de realizar exercícios no calor é reduzida (CHEUVRONT *et al.*, 2010). Embora os mecanismos envolvidos nesta redução do desempenho não sejam totalmente compreendidos (CHEUNG e SLEIVERT, 2004; CHEUVRONT *et al.*, 2010), existe um corpo de evidências que os sistemas termorregulatório e cardiovascular estão envolvidos. No ambiente quente o gradiente de temperatura entre o ambiente e a pele diminui, portanto, é necessário maior fluxo sanguíneo na pele para manter a dissipação cutânea de calor. Este ajuste hemodinâmico sobrecarrega o coração e nossos resultados estão de acordo com estas observações: os ratos controles apresentaram diminuições no gradiente entre o ambiente e a pele, e maiores aumentos na pressão arterial, na frequência cardíaca e na temperatura interna e da pele induzidos pelo exercício em 35°C quando comparados a 25°C (FIGURA 26).

No presente estudo, uma das nossas hipóteses era que a DSA produziria maior impacto durante o exercício no calor comparado ao ambiente temperado. Em contraste, a redução percentual do tempo de corrida até a interrupção do esforço induzida pela desnervação no ambiente quente não foi diferente quando comparada ao ambiente temperado, independente do protocolo de exercício. Nas duas temperaturas ambiente, os efeitos induzidos pela DSA nos parâmetros cardiovasculares ocorreram na mesma direção, com os aumentos na pressão arterial, na frequência cardíaca e no duplo produto sendo sempre maior nos ratos DSA. Além disso, a magnitude dos aumentos da variabilidade da pressão arterial no grupo DSA também não foi diferente comparando as duas temperaturas ambiente testadas (FIGURA 28). Portanto, as alterações nas respostas cardiovasculares ao exercício induzidas pela DSA são provavelmente mediados centralmente e independem da ativação dos termorreceptores internos e da pele.

A temperatura interna dos ratos DSA foi aproximadamente 1°C menor na interrupção do esforço no ambiente quente (FIGURA 26H), indicando que a contribuição dos estímulos térmicos provenientes do interior do corpo para a fadiga

estava diminuída nos ratos desnervados em comparação ao grupo controle. Embora a redução do desempenho dos ratos DSA possa ter sido parcialmente influenciada por uma elevada temperatura interna, a alteração no controle autonômico cardiovascular foi, provavelmente, o fator primário associado com a antecipação da fadiga nesses animais.

Um modelo recente para explicar os mecanismos de fadiga sugere que a interação entre as vias aferentes provenientes dos receptores periféricos e do controle antecipatório do comando central, gera uma percepção consciente do esforço, que regula a extensão da ativação dos músculos esqueléticos durante o exercício (LAMBERT *et al.*, 2005; NOAKES, 2012). Entretanto, a participação das vias aferentes na modulação do desempenho físico não é um consenso. Alguns autores sugerem que a percepção do esforço é a consequência do aumento progressivo do comando motor central, independente dos sinais aferentes (MARCORA, 2010). Os presentes achados sugerem a existência de um papel determinante das aferências na regulação do desempenho. O aumento da frequência cardíaca dos ratos DSA é indicativo que a falta das vias aferentes induziu um comando central desproporcional à intensidade do esforço, o que aumentou a percepção do animal sobre o risco da continuidade do exercício. Isto fica evidente quando os ratos realizam o exercício no ambiente quente, independente do barorreflexo.

Embora as áreas cerebrais envolvidas na geração do comando central não sejam bem conhecidas, tem sido demonstrado que regiões do diencefalo caudal ao mesencefalo rostral participam deste mecanismo (HAYASHI, 2003). A partir de estudos mostrando que o comando central cardiovascular está alterado em indivíduos com doença de Parkinson, condição na qual os neurônios dopaminérgicos do mesencefalo estão diminuídos (MURATA *et al.*, 1997). O sistema dopaminérgico mesencefálico é dividido em três grupos celulares: a substância negra, a área tegmentar ventral e o núcleo retrorubral. Existem projeções da área tegmentar ventral para o córtex cerebral, gânglio basal e hipotálamo. O seguinte conjunto de evidências indica que a área tegmentar ventral está envolvida na geração do comando central cardiovascular associada com a atividade motora espontânea: 1) sua estimulação por meio da injeção de bicuculina aumentou a atividade simpática renal, a pressão arterial, a frequência e as descargas no nervo motor tibial (Nakamoto *et al.*, 2011); 2) o bloqueio com lidocaína interrompeu os

eventos cardiovasculares espontâneos associados com a atividade motora (MATSUKAWA, 2012); 3) a estimulação elétrica induziu vasodilatação no leito vascular femoral de ratos (NAKAMOTO *et al.*, 2011).

#### 4.5 Limitações

Nossos resultados, não podem demonstrar claramente se os efeitos da desnervação no desempenho são diretos ou indiretos. É possível que a DSA tenha provocado alterações morfológicas e funcionais no coração, nos vasos e nos órgãos alvo. De fato, tem sido mostrado que ratos submetidos à DSA apresentam hipertrofia cardíaca (MIAO e SU, 2002) e remodelamento vascular (FLUES *et al.*, 2011), que são induzidos pelo aumento da variabilidade da pressão arterial (LANFRANCHI e SOMERS, 2002). Estas alterações podem interferir, em alguma extensão, com a capacidade de exercício dos ratos. Em contraste, um estudo prévio mostrou que as vias do tronco encefálico envolvidas na regulação da pressão arterial e do tônus vasomotor simpático estão preservadas nos ratos DSA (SCHREIHOFER *et al.*, 2005). Nós especulamos que, quando os ratos DSA foram testados eles não apresentaram qualquer incapacidade cardiovascular grave ou locomotora. Existem algumas evidências sustentando nossa hipótese: os ratos DSA apresentaram aumentos na temperatura interna induzidos pelo exercício similares aos ratos controles, sugerindo que o aumento característico da taxa metabólica não foi afetado pela DSA. Nós também não observamos por meio da inspeção visual qualquer alteração no modo de correr dos ratos desnervados. Além disso, as respostas cardiovasculares dos ratos DSA ocorreram sempre na direção esperada, embora numa magnitude maior.

Na literatura, os autores que afirmam que a modulação da percepção do esforço independe da sinalização aferente (MARCORA, 2010), são contrapostos por outros mostrando um importante papel das aferências periféricas sobre o desempenho (PIRES *et al.*, 2011; NOAKES, 2012). Embora nossos resultados mostrem a participação das aferências barorreflexas na regulação do desempenho, eles não nos permitem escolher um modelo em detrimento outro, em função das diferenças metodológicas. Nós não pudemos testar um possível efeito da DSA na

regulação da cadência e na percepção do esforço logo no início da corrida, que é uma proposta do modelo de Noakes.

Embora os dados do presente estudo forneçam evidências que o comando central cardiovascular aumentado seja a principal explicação para a exacerbação do aumento da pressão arterial e da frequência cardíaca induzidos pela corrida na esteira, nós não podemos desprezar uma possível participação dos metaborreceptores nesta resposta. Alterações na perfusão muscular induzidas pela DSA podem resultar em aumento do estímulo metabólico e exacerbar a resposta cardiovascular.

O fato da ordem dos experimentos (temperado vs. quente) não ter sido aleatória pode ter influenciado em alguma extensão as comparações entre os ambientes, embora este não tenha sido o objetivo principal do estudo, uma vez que a redução do desempenho no calor já está bem estabelecida na literatura (PARKIN *et al.*, 1999; RODRIGUES *et al.*, 2003).

## 5. CONCLUSÕES

Em conclusão, ausência das aferências provenientes dos barorreceptores arteriais reduz o desempenho físico nos ambientes temperado e quente por meio de alterações nos ajustes neurais cardiovasculares. Na ausência das aferências, os ratos apresentaram maior variabilidade da pressão arterial e aumentos exacerbados do trabalho cardíaco, da pressão arterial e da frequência cardíaca enquanto estavam correndo. É provável que estas alterações na modulação autonômica cardiovascular sejam a causa, ao menos parcial, da antecipação da interrupção do esforço nos ratos DSA.

## REFERÊNCIAS

AMANN, M. *et al.* Commentaries on viewpoint: fatigue mechanisms determining exercise performance: integrative physiology is systems physiology. **Journal of Applied Physiology**, v. 104, p. 1543–1546, 2008.

BANGSBO J. *et al.* Lactate and H<sup>+</sup> effluxes from human skeletal muscles during intense, dynamic exercise. **Journal of Physiology**, v. 462, p. 115-33, 1993.

BLAND, J. M., ALTMAN, D. G. The logrank test. **BMJ**, v. 328, p. 1073, 2004

CERUTTI, C., BARRES, C., PAULTRE, C. Baroreflex modulation of blood pressure and heart rate variabilities in rats: assessment by spectral analysis. **American Journal of Physiology**, v. 266, p. H1993–H2000, 1994.

CHAN, R. K. W., JARVINA, E. V., SAWCHENKO, P. E. Effects of selective sinoaortic denervations on phenylephrine-induced activational responses in the nucleus of the solitary tract. **Neuroscience**, v. 101, p. 165–178, 2000.

CHEUNG, S. S., SLEIVERT, G. G. Multiple triggers for hyperthermic fatigue and exhaustion. **Exercise and sport sciences reviews**, v. 32, p. 100-106, 2004.

CHEUVRONT, S.N. *et al.* Mechanisms of aerobic performance impairment with heat stress and dehydration. **Journal of Applied Physiology** 109, 1989–1995, 2010.

COLLINS, H. L., KIM, J. K., DICARLO, S. E. Sino-aortic denervation alters the hemodynamic response to exercise in hypertensive rats. **Clinical and Experimental Hypertension**, v. 23, p. 657–666, 2001.

DWORKIN, B. R., DWORKIN, S., TANG, X. Carotid and aortic baroreflexes of the rat: I. Open-loop steady-state properties and blood pressure variability. **American Journal of Physiology Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 279, p. R1910–R1921., 2000.

EDWARDS, R. H. T. Biochemical bases of fatigue in exercise performance: catastrophe theory of muscular fatigue. **Biochemistry of Exercise**, v. 13, p. 3–28, 1983.

FLETCHER, W. M., HOPKINS, F. G. Lactic acid in amphibian muscle. **The Journal of Physiology**, p. 35, v. 247–309, 1907.

FLUES, K. *et al.* Cardiac and pulmonary arterial remodeling after sinoaortic denervation in normotensive rats. **Autonomic Neuroscience**, v. 166, p. 47-53, 2011.

GOLDSTEIN, D. S. *et al.* Low-frequency power of heart rate variability is not a measure of cardiac sympathetic tone but may be a measure of modulation of cardiac autonomic outflows by baroreflexes. **Experimental Physiology**, v. 96, p. 1255–1261, 2011.

GONZÁLEZ-ALONSO, J. *et al.* Influence of body temperature on the development of fatigue during prolonged exercise in the heat. **Journal of Applied Physiology**, v. 86, p. 1032–1039, 1999.

HAYASHI, N. Exercise pressor reflex in decerebrate and anesthetized rats. **American Journal of Physiology**, v. 284, p. H2026–H2033, 2003.

HILL, A. V., LUPTON, H. Muscular exercise, lactic acid, and the supply and utilization of oxygen. **QJM**, v. 135, 1923.

HOPKINS, W. G., SCHABORT, E. J., HAWLEY, J. A. Reliability of power in physical performance tests. **Sports Medicine**, v. 31, p. 211–234, 2001.

JOHNSON, J. M. Exercise in a hot environment: the skin circulation. **Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports**, v. 20, p. 29–39, 2010.

JOYNER, M. J. Baroreceptor function during exercise: resetting the record. **Experimental Physiology**, v. 91, p. 27–36, 2006.

JULIEN, C. *et al.* Dynamic interactions between arterial pressure and sympathetic nerve activity: role of arterial baroreceptors. **American Journal of Physiology Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 285, p. R834–R841, 2003.

KREGEL, K. C., GISOLFI, C. V. Circulatory responses to vasoconstrictor agents during passive heating in the rat. **Journal of Applied Physiology**, v. 68, p. 1220–1227, 1990.

KREGEL, K. C. *et al.* Arterial baroreceptor reflex modulation of sympathetic-cardiovascular adjustments to heat stress. **Hypertension**, v. 15, p. 497–504, 1990.

KRIEGER, E. M. Neurogenic hypertension in the rat. **Circulation Research**, v. 15, p. 511–521, 1964.

LAMBERT, E. V., GIBSON, A. S. C., NOAKES, T. D. Complex systems model of fatigue: integrative homeostatic control of peripheral physiological systems during exercise in humans. **British Journal of Sports Medicine**, v. 39, p. 52–62, 2005.

LANFRANCHI, P. A., SOMERS, V. K. Arterial baroreflex function and cardiovascular variability: interactions and implications. **American Journal of Physiology Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 283, p. R815–R826, 2002.

LIMA, N. R. V, COIMBRA C. C, MARUBAYASHI U. Effect of intracerebroventricular injection of atropine on metabolic responses during exercise in untrained rats. **Physiology and Behavior**, v. 64, p. 69-74, 1998.

MARCORA, S. M. Perception of effort during exercise is independent of afferent feedback from skeletal muscles, heart, and lungs. **Journal Applied Physiology**, v. 106, p. 2060–2062, 2009;

MARCORA, S. M. Counterpoint: Afferent feedback from fatigued locomotor muscles is not an important determinant of endurance exercise performance. **Journal of Applied Physiology**, v. 108, p. 454–456, 2010.

MARCORA, S. M. Do we really need a central governor to explain brain regulation of exercise performance? **European journal of applied physiology**, v. 104, p. 929–931, 2008.

MARTÍNEZ-NIEVES, B., COLLINS, H. L., DICARLO, S. E. Arterial baroreflex regulation of regional vascular conductance at rest and during exercise. **American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 278, p. R1634–R1642, 2000.

MARTINI, A. R. P. Raspar a cabeça não altera a velocidade na corrida de 10km sob o sol. Dissertação Mestrado em Ciências do Esporte - **Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional, Universidade Federal de Minas Gerais**, 2009.

MATSUKAWA, K. Central command: control of cardiac sympathetic and vagal efferent nerve activity and the arterial baroreflex during spontaneous motor behaviour in animals. **Experimental Physiology**, v. 97, p. 20–28, 2012.

MIAO, C. Y., SU, D. F. The importance of blood pressure variability in rat aortic and left ventricular hypertrophy produced by sinoaortic denervation. **Journal of Hypertension**, v. 20, p. 1865, 2002.

MURATA, Y., HARADA, T., ISHIZAKI, F., IZUMI, Y., NAKAMURA, S. Autonomic dysfunction in Parkinson's disease and vascular parkinsonism. **Acta Neurologica Scandinavica**, v. 96, p. 359–365, 1997.

NAKAMOTO, T., MATSUKAWA, K., LIANG, N., WAKASUGI, R., WILSON, L. B., HORIUCHI, J. Coactivation of renal sympathetic neurons and somatic motor neurons by chemical stimulation of the midbrain ventral tegmental area. **Journal of Applied Physiology**, v. 110, p. 1342–1353, 2011.

NOAKES, T. D. Physiological models to understand exercise fatigue and the adaptations that predict or enhance athletic performance. **Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports**, v. 10, p. 123–145, 2000.

NOAKES, T. D. Fatigue is a Brain-Derived Emotion that Regulates the Exercise Behavior to Ensure the Protection of Whole Body Homeostasis. **Frontiers Physiology**, v. 3, p. 1-13, 2012.

NOAKES, T. D., GIBSON, A. S. C., LAMBERT, E. V. From catastrophe to complexity: a novel model of integrative central neural regulation of effort and fatigue during exercise in humans: summary and conclusions. **British journal of sports medicine**, v. 39, p. 120–124, 2005.

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

PIRES, F. O. *et al.* The influence of peripheral afferent signals on the rating of perceived exertion and time to exhaustion during exercise at different intensities. **Psychophysiology**, v. 48, p. 1284–1290, 2011.

PIRES, W. *et al.* Intracerebroventricular physostigmine enhances blood pressure and heat loss in running rats. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 58, p.3, 2007.

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

POTTS J. T. Inhibitory neurotransmission in the nucleus tractus solitarii: implications for baroreflex resetting during exercise. **Experimental Physiology**, v. 91 p. 59–72, 2005.

RADAELLI, A. *et al.* Adrenergic origin of very low-frequency blood pressure oscillations in the unanesthetized rat. **American Journal of Physiology**, v. 290, p. H357–H364, 2006.

RODRIGUES, L., SILMI-GARCIA, E. Fadiga: falha ou mecanismo de proteção. **Temas Atuais III**. 1<sup>a</sup>. ed. Belo Horizonte: Livraria e Editora Saúde Ltda v. 3, p. 27–48, 1998.

RODRIGUES, L. O. C. *et al.* Heat storage rate and acute fatigue in rats. **Brazilian journal of medical and biological research**, v. 36, p. 131–135, 2003.

ROWELL, L. B., O'LEARY, D. S. Reflex control of the circulation during exercise: chemoreflexes and mechanoreflexes. **Journal of Applied Physiology**, v. 69, p. 407–418, 1990.

ROWELL, L. B., SHEPHERD, J. T. Handbook of physiology: section 12 exercise, regulation and integration of multiple systems. **American Physiology Society**, Oxford University Press, 1996.

SAWKA, M. N. *et al.* Physiologic tolerance to uncompensable heat: intermittent exercise, field vs laboratory. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 33, p. 422, 2001.

SCHERRER, U. *et al.* Arterial baroreflex buffering of sympathetic activation during exercise-induced elevations in arterial pressure. **Journal of Clinical Investigation**, v. 86, p. 1855, 1990.

SCHREIHOFER, A. M., ITO, S., SVED, A. F. Brain stem control of arterial pressure in chronic arterial baroreceptor-denervated rats. **American Journal of Physiology Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 289, p. R1746–R1755, 2005.

SOARES, D. D. *et al.* Intracerebroventricular tryptophan increases heating and heat storage rate in exercising rats. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 78, p. 255–261, 2004.

TANG, X., DWORKIN, B. R. The dmNTS is not the source of increased blood pressure variability in baroreflex denervated rats. **Autonomic Neuroscience**, v. 148, p. 21–27, 2009.

TUCKER, R. The anticipatory regulation of performance: the physiological basis for pacing strategies and the development of a perception-based model for exercise performance. **British Journal of Sports Medicine**, v. 43, p. 392–400, 2009.

WAKI, H. *et al.* Dynamic exercise attenuates spontaneous baroreceptor reflex sensitivity in conscious rats. **Experimental Physiology**, v. 88, p. 517–526, 2003.

WAKI, H. *et al.* Automation of analysis of cardiovascular autonomic function from chronic measurements of arterial pressure in conscious rats. **Experimental Physiology**, v. 91, p. 201–213, 2006.

WANNER, S. P. *et al.* Aging reverses the role of the transient receptor potential vanilloid-1 channel in systemic inflammation from anti-inflammatory to proinflammatory. **Cell Cycle**, v. 11, p. 343–349, 2012.

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

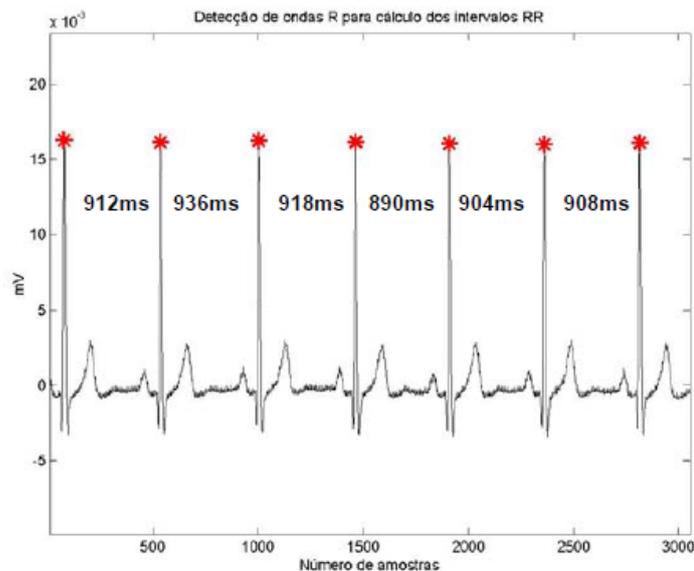
WANNER, S. P. *et al.* Muscarinic cholinceptors in the ventromedial hypothalamic nucleus facilitate tail heat loss during physical exercise. **Brain Research Bulletin**, v. 73, p. 28–33, 2007.

YOSHIMOTO, T. *et al.* Frequency components of systolic blood pressure variability reflect vasomotor and cardiac sympathetic functions in conscious rats. **The Journal of Physiological Sciences**, v. 1–11, 2011.

## APÊNDICE A

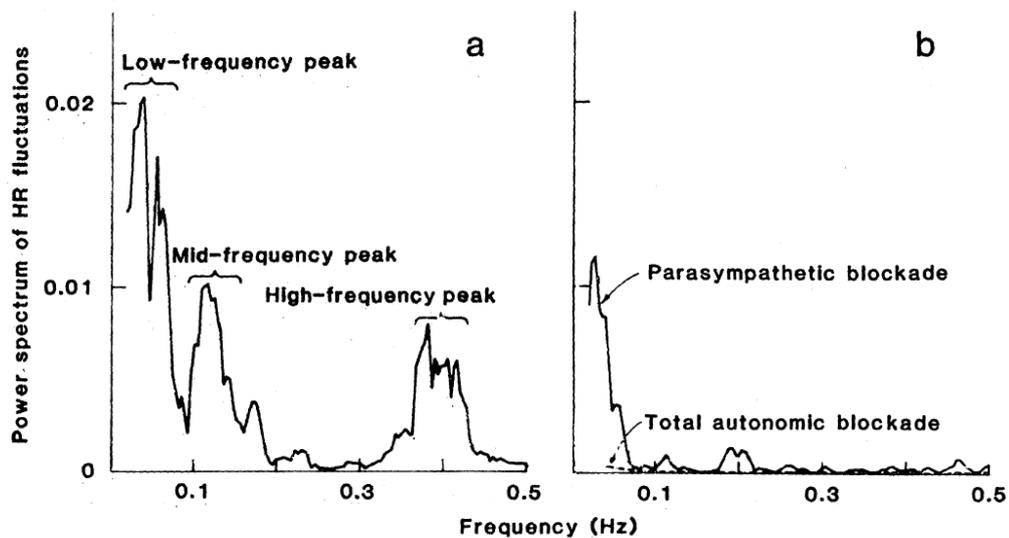
### Breve histórico sobre a análise da variabilidade da frequência cardíaca e da pressão arterial

No presente estudo, a modulação autonômica em resposta ao exercício no calor foi avaliada por meio da análise da variabilidade da pressão arterial e da frequência cardíaca. Os parâmetros cardiovasculares como a pressão arterial e a frequência cardíaca variam a cada batimento em função da atividade rítmica do sistema autonômico (FIGURA 1).



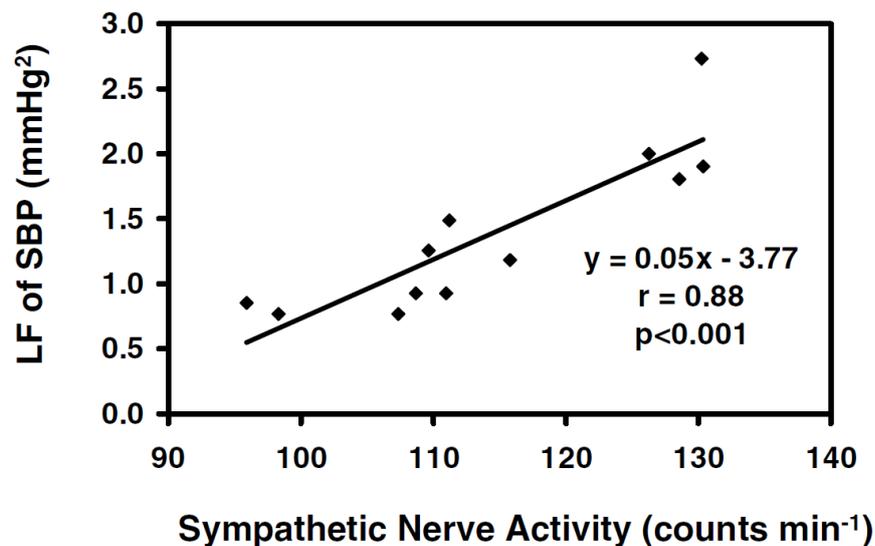
**FIGURA 1.** Eletrocardiograma mostrando as oscilações do intervalo de tempo entre os batimentos cardíacos.

A análise desta variabilidade tornou-se de grande interesse devido à sua facilidade e do seu potencial uso clínico. Em 1963, Hon e Lee mostraram que a morte fetal era precedida por alterações no intervalo entre os batimentos cardíacos. Saykrs (1973) demonstrou a existência de ritmos fisiológicos no sinal da frequência cardíaca. Em 1981, Akselrod *et al.* introduziram a análise espectral das oscilações da frequência cardíaca para quantificar a modulação autonômica cardiovascular e mostraram a existência de três componentes no espectro de frequência das oscilações no intervalo de pulso (FIGURA 2).



**FIGURA 2.** Espectro de frequência das oscilações da frequência cardíaca (a). No espectro estão demonstrado picos de baixa, média e alta frequência. Após o bloqueio parassimpático os picos de média e alta frequência foram atenuados, permanecendo apenas o pico de baixa frequência (b). Após o bloqueio autonômico total os três picos foram fortemente atenuados. (Retirado de Akselrod et al., 1981)

Esses componentes foram fortemente atenuados pelo bloqueio autonômico realizado por meio da infusão de combinada de glicopirrolato (bloqueador muscarínico) e de propranolol (antagonista  $\beta$ -adrenérgico). Na última década houve um aumento exponencial de estudos utilizando a análise da variabilidade cardiovascular para discutir a modulação autonômica quando Bigger Jr. *et al.* (1992) mostraram que a diminuição da variabilidade da frequência cardíaca é um forte preditor da mortalidade seguindo o infarto agudo do miocárdio. Atualmente algumas relações entre a variabilidade da pressão arterial e a modulação simpática são bem estabelecidas. Waki *et al.* (2006) encontraram correlação positiva e significativa entre a atividade simpática lombar e o componente de baixa frequência da pressão arterial sistólica em ratos conscientes, indicando que os valores deste componente são adequados para medir as alterações na atividade simpática vasomotora (FIGURA 3).



**FIGURA 3.** Correlação entre a atividade simpática e o componente de baixa frequência (BF) do espectro da pressão arterial sistólica (PAS) em um rato acordado. Uma correlação positiva e significativa entre a atividade simpática lombar e o BF da PAS indica que os valores do BF são uma medida adequada das alterações da atividade simpática vasomotora. (Retirado de Waki et al., 2006).

Radaelli *et al.* (2006) mostraram que as oscilações no componente de muito baixa frequência são induzidas pela ligação das catecolaminas aos receptores  $\alpha$ -adrenérgicos. Assim, a análise espectral da pressão arterial e da frequência cardíaca tem sido utilizada para avaliar a modulação autonômica durante várias condições fisiológicas, incluindo o exercício físico e exposição ao calor (BRENNER, *et al.* 1998).

## Referências

AKSELROD, S. *et al.* Power spectrum analysis of heart rate fluctuation: a quantitative probe of beat-to-beat cardiovascular control. **Science**, v. 213, p. 220–222, 1981.

BRENNER, I. K. M., THOMAS, S., SHEPHARD, R. J. Autonomic regulation of the circulation during exercise and heat exposure: inferences from heart rate variability. **Sports Medicine**, v. 26, p. 85–99, 1998.

BIGGER JR, J. T. *et al.* Frequency domain measures of heart period variability and mortality after myocardial infarction. **Circulation**, v. 85, p. 164–171, 1992.

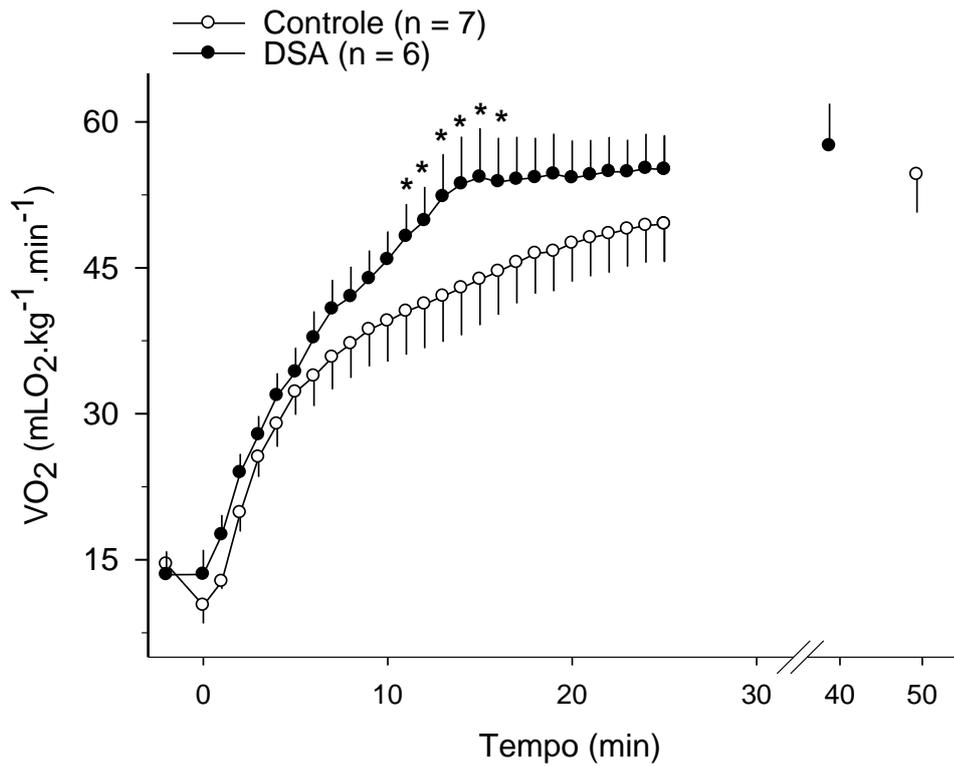
HON, E. H., LEE, S. T. Electronic evaluation of fetal heart rate. VIII. Patterns preceding fetal death, further observations. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 87, p. 814, 1963.

RADAELLI, A. *et al.* Adrenergic origin of very low-frequency blood pressure oscillations in the unanesthetized rat. **American Journal of Physiology**, v. 290, p. H357–H364, 2006.

SAYKRS, B. M. Analysis of heart rate variability. **Ergonomics**, v. 16, p. 17–32., 1973.

WAKI, H. *et al.* Automation of analysis of cardiovascular autonomic function from chronic measurements of arterial pressure in conscious rats. **Experimental Physiology**, v. 91, p. 201–213, 2006.

## APÊNDICE B

**Efeitos da desnervação sino-aórtica crônica sobre o consumo de oxigênio durante o exercício com velocidade constante.**

Efeitos da desnervação sino-aórtica (DSA; n = 6) ou cirurgia fictícia (CONTROLE; n = 7) no consumo de oxigênio de ratos durante o exercício com velocidade constante (18m/min; 5% de inclinação) em ambiente temperado (25°C). Os valores são apresentados como média ± EPM. \*  $P < 0,05$  comparado ao grupo controle.

## ANEXO A

## Certificado da Comissão de Ética no Uso de Animais - UFMG



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

## CERTIFICADO

Certificamos que o **Protocolo nº 178/2010**, relativo ao projeto intitulado "**Participação do sistema autonômico simpático nos ajustes termorregulatórios induzidos pela estimulação coinerérgica central durante o exercício físico**", 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 **27/ 10/2010**.

Este certificado expira-se em **27/ 10/ 2015**.

## CERTIFICATE

We hereby certify that the **Protocol nº 178/2010**, related to the project entitled "**Role of sympathetic autonomic system on thermoregulatory adjustments induced by central cholinergic stimulation during physical exercise**", 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 **October 27, 2010**.

This certificate expires in **October 27, 2015**.

Belo Horizonte, 29 de Outubro de 2010.

  
**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](http://www.ufmg.br/bioetica/cetea) - [cetea@prpq.ufmg.br](mailto:cetea@prpq.ufmg.br)