

Laura Hora Rios Leite

**IMPORTÂNCIA DOS RECEPTORES AT₁ CENTRAIS NA
TERMORREGULAÇÃO DURANTE O EXERCÍCIO
FÍSICO EM RATOS**

**Universidade Federal de Minas Gerais
Belo Horizonte
2006**

Laura Hora Rios Leite

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**IMPORTÂNCIA DOS RECEPTORES AT₁ CENTRAIS NA
TERMORREGULAÇÃO DURANTE O EXERCÍCIO FÍSICO EM
RATOS**

Universidade Federal de Minas Gerais
Instituto de Ciências Biológicas
Departamento de Fisiologia e Biofísica
Laboratório de Endocrinologia e Metabolismo
Belo Horizonte
2006
Laura Hora Rios Leite

**IMPORTÂNCIA DOS RECEPTORES AT₁ CENTRAIS NA
TERMORREGULAÇÃO DURANTE O EXERCÍCIO FÍSICO EM RATOS**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Fisiologia e Farmacologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Biológicas com área de concentração em Fisiologia.

Orientador: Prof. Dr. Cândido Celso Coimbra

Co-orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Umeko Marubayashi

Belo Horizonte
2006

O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Endocrinologia e Metabolismo do Departamento de Fisiologia e Biofísica do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, na vigência dos auxílios concedidos pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenadoria de Apoio ao Pessoal de Nível Superior (CAPES), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e Pró-Reitoria de Pesquisa da UFMG (PRPq).

Aos meus pais Cesar e Virginia, pelo exemplo e amor.

Aos meus irmãos Daniel e Livia.

À Ivana e ao Henrique.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Prof. Cândido Celso Coimbra, pela confiança, pelo incentivo à minha atividade científica e pela valiosa supervisão na realização deste trabalho.

À Prof^a. Umeko Marubayashi, o meu sincero agradecimento pela generosidade e boa vontade em colaborar com o projeto.

À Prof^a. Adelina Martha dos Reis pelo apoio sempre disponível.

À Prof^a. Danusa Dias Soares por compartilhar um pouco do seu conhecimento e pela oportunidade de crescimento.

Ao amigo André Luis Pimenta de Faria pela dedicação e paciência durante o auxílio técnico diário recebido.

A todos os amigos do Laboratório de Endocrinologia e Metabolismo, em especial ao Alex, Ana Cristina e Cláudio Heitor. Obrigada a todos pela colaboração no desenvolvimento deste trabalho.

ÍNDICE

INTRODUÇÃO	12
Regulação da temperatura corporal interna (T_c).....	13
Regulação da temperatura corporal interna (T_c) durante o exercício físico.....	16
Temperatura corporal interna (T_c) durante o exercício físico e a fadiga central....	22
O sistema renina-angiotensina e a termorregulação.....	24

A angiotensina II (ANG II) e o exercício físico.....	27
Objetivo.....	28
Objetivos específicos.....	28
MATERIAL E MÉTODOS.....	29
Animais.....	30
Procedimentos cirúrgicos.....	30
Canulação central.....	30
Implante do sensor de temperatura.....	31
Temperaturas ambiente, corporal e da cauda.....	32
Exercício físico.....	32
Procedimento experimental.....	33
Cálculos.....	34
Análise estatística.....	35
RESULTADOS.....	36
Efeito da injeção icv de 2 μ L de LOS (20 nmol, n = 4; 30 nmol, n = 4; 60 nmol, n = 7) ou de 0,15 M NaCl (SAL, n = 15) na temperatura corporal interna (T_c) no ponto de fadiga.....	37
Efeito da injeção icv de 2 μ L de LOS (60 nmol, n =) ou de 0,15 M NaCl (SAL, n = 9) na temperatura corporal interna (T_c) e da cauda (T_{cauda}) durante o repouso.....	39
Efeito da injeção icv de 2 μ L de LOS (60 nmol, n = 7) ou de 0,15 M NaCl (SAL, n =15) sobre o tempo total de exercício (TTE) e sobre o trabalho (W) durante o exercício até a fadiga.....	40
Efeito da injeção icv de 2 μ L de LOS (60 nmol, n = 7) ou de 0,15 M NaCl (SAL, n = 15) na temperatura corporal interna (T_c) e da cauda (T_{cauda}) durante o exercício até a fadiga.....	42

Efeito da injeção icv de 2 μ L de LOS (60 nmol, n = 7) ou de 0,15 M NaCl (SAL, n =15) sobre a taxa de aquecimento corporal (BHR) e a taxa de acúmulo de calor (HSR) durante o exercício até a fadiga.....	45
Efeito da injeção icv de 2 μ L de LOS (60 nmol, n = 7) ou de 0,15 M NaCl (SAL, n = 15) sobre o limiar de vasodilatação da cauda (TT _{cV}) durante o exercício até a fadiga.....	47
DISCUSSÃO	49
CONCLUSÕES	58
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	60
ANEXO	69

RESUMO

Objetivo: avaliar o efeito do bloqueio central do receptor para angiotensina AT₁, por meio da injeção intracerebroventricular (icv) de losartan (LOS), nas respostas termorregulatórias em ratos durante o exercício. **Material e métodos:** foram utilizados ratos Wistar normais, não treinados, pesando entre 240-330 g. Os animais portavam uma cânula no ventrículo lateral direito (VLD) para administração de 2 μ L de LOS (20 nmol, n = 4; 30 nmol, n = 4; 60 nmol, n = 7), ou 0,15 M NaCl (SAL; n = 15). A temperatura corporal interna (T_c), determinada por telemetria através de um sensor de temperatura implantado na cavidade

intraperitoneal do rato, e a temperatura da cauda (T_{cauda}) foram medidas durante o repouso e enquanto os animais realizavam um exercício submáximo em esteira metabólica para roedores a uma velocidade de 18 m/min, 5 % de inclinação, até a fadiga. A partir dos dados obtidos foram calculados: a taxa de aquecimento corporal (BHR), a taxa de calor acumulado (HSR), o limiar T_c de vasodilatação da cauda (TT_{cV}), o tempo total de exercício (TTE) e o trabalho (W). **Resultados:** Durante o repouso, a T_c e T_{cauda} dos animais de ambos os tratamentos permaneceram estáveis. O exercício induziu um aumento de 40 % e 53 %, respectivamente, na BHR e na HSR dos animais tratados com LOS ($p < 0,01$) em comparação com os animais tratados com SAL. Adicionalmente, os ratos injetados com LOS apresentaram um maior TT_{cV} ($38,59 \pm 0,19^\circ \text{C}$, LOS vs $38,12 \pm 0,1^\circ \text{C}$, SAL, $p < 0,02$), uma T_c maior no ponto de fadiga ($39,07 \pm 0,14^\circ \text{C}$, LOS vs $38,66 \pm 0,07^\circ \text{C}$, SAL, $p < 0,01$) e um desempenho físico reduzido ($27,29 \pm 4,48$ min, LOS vs $52,47 \pm 6,67$ min, SAL, $p < 0,01$), que mostrou-se intimamente relacionada à BHR elevada. **Conclusões:** Estes resultados sugerem que durante o exercício o bloqueio do receptor AT_1 atenua a dissipação de calor devido ao TT_{cV} elevado, provocando um aumento acentuado da T_c , e, conseqüentemente, uma antecipação da fadiga.

Palavras chave: Losartan, receptor AT_1 , vasodilatação da cauda, exercício, termorregulação.

ABSTRACT

The effect of central angiotensin AT₁ receptor blockade on thermoregulation in rats during exercise on a treadmill (18 m.min⁻¹, 5% inclination) was investigated. Core (T_b) and skin tail (T_{tail}) temperatures were measured in rats while they were exercising until fatigue after injection of 2 μL of losartan (LOS, 20 nmol, n = 4; 30 nmol, n = 4; 60 nmol, n = 7), an angiotensin II AT₁ receptor antagonist, or 2 μL of 0.15 mol/l NaCl (SAL, n = 15) into the right lateral cerebral ventricle. Body heat rate (BHR), heat storage rate (HSR), threshold T_b for tail vasodilation (TT_{bV}), time to fatigue (TTF) and workload (W) were calculated. During exercise, the BHR and HSR of LOS-treated animals were, respectively, 40 %

and 53 % higher ($p < 0.01$) than in SAL-treated animals. Additionally, rats injected with LOS showed an increased TT_{bV} ($38.59 \pm 0.19^{\circ} \text{C}$, LOS vs $38.12 \pm 0.1^{\circ} \text{C}$, SAL, $p < 0.02$), a higher T_b at fatigue point ($39.07 \pm 0.14^{\circ} \text{C}$, LOS vs $38.66 \pm 0.07^{\circ} \text{C}$, SAL, $p < 0.01$) and a reduced running performance ($27.29 \pm 4.48 \text{ min}$, LOS vs $52.47 \pm 6.67 \text{ min}$, SAL, $p < 0.01$), which was closely related to the increased BHR. Our data suggest that AT_1 receptor blockade attenuates heat dissipation during exercise due to the higher TT_{bV} , leading to a faster exercise-induced increase in T_b , thus decreasing running performance.

Keywords: Losartan, AT_1 receptor, tail vasodilation, exercise, thermoregulation

INTRODUÇÃO

REGULAÇÃO DA TEMPERATURA CORPORAL INTERNA (T_c)

A temperatura corporal interna (T_c) é um sinal vital que se refere à temperatura dos órgãos internos, isto é, vísceras torácicas e abdominais e encéfalo, cujo valor não varia significativamente devido aos ajustes circulatórios e alterações na dissipação de calor. Nos ratos, a T_c é o parâmetro térmico mais comumente medido. Ela varia de acordo com o ciclo circadiano desses animais sendo que seu valor basal permanece dentro da faixa de 37° C e 38° C. Os maiores valores são atingidos durante o período noturno pois corresponde ao período de maior atividade do animal. A T_c responde rapidamente a situações de estresse como, por exemplo, o simples manusear do animal, elevando seu valor por um tempo prolongado (Gordon, 1990; Briese, 1998).

A T_c em animais homeotérmicos é regulada através da integração de vários mecanismos divididos em duas categorias: autonômicos e comportamentais (Simon, 1999, Webb, 1995). Embora os mecanismos autonômicos sejam vitais e eficazes, a termorregulação comportamental é essencial para a adequação da T_c . Dentre os mecanismos de regulação autonômicos estão aqueles responsáveis pela produção de calor e aqueles responsáveis pela sua dissipação. A produção de calor ocorre principalmente em decorrência do aumento do metabolismo (Ricquier, 2006). Em situações de exposição ao frio, o organismo aumenta a atividade muscular esquelética (termogênese por tremor) ou a mobilização e utilização de substratos calorigênicos (termogênese sem tremor) intensificando a produção de calor

(Nagashima *et al.*, 2000. Este último ocorre em tecidos especializados como o tecido adiposo marrom, presente nos roedores. A perda de calor é determinada quase exclusivamente por dois fatores: através da perda evaporativa, por exemplo, pela sudorese no homem e pela salivação no rato, e pela perda não-evaporativa que possibilita a dissipação de calor dos tecidos centrais para a periferia através da vasodilatação periférica (Stocks *et al.*, 2004). Além disso, tanto a perda quanto a conservação de calor podem ocorrer de maneira passiva com o ambiente através da condução, convecção e radiação. As respostas efetoras variam de acordo com a temperatura do ambiente (T_a) no qual o animal se encontra e estas mantêm uma situação de equilíbrio dinâmico entre a produção e a dissipação de calor. Isso quer dizer que a redução da T_a irá induzir a ativação de mecanismos de produção de calor e inibição dos mecanismos de perda de calor; e vice versa (Webb, 1995).

Em ratos, além da regulação autonômica, o controle da temperatura depende de reações comportamentais. Dentre essas reações estão o espalhamento de saliva sobre o próprio corpo, dissipando calor pela evaporação (Schimmer *et al.*, 2004); a seleção da T_a que permita ao animal buscar ambientes com conforto térmico (Tanaka *et al.*, 2003; e ajustes posturais que alteram o contato do corpo com a superfície de modo a manter-se mais aquecido ou refrigerado. Em relação à perda de calor, o aumento do fluxo sanguíneo provocado pela vasodilatação periférica facilita a dissipação (Gordon, 1993). A diminuição do tônus simpático da artéria da cauda e demais tecidos que não possuem pelagem e com baixo isolamento térmico é de fundamental importância nesses animais. Por outro lado, a manutenção do

calor também é determinada pela piloereção considerada um meio de isolamento térmico no frio.

As áreas do sistema nervoso central que são ativadas por flutuações na temperatura ambiente e que mediam as respostas fisiológicas a essas flutuações em mamíferos estão localizadas principalmente no hipotálamo. A área pré-óptica e o hipotálamo anterior (POA/AH) têm sido apontados como os sítios primários da integração de sinais térmicos originados de diferentes partes do corpo e pela coordenação da regulação da T_c (Gordon, 1990). Esses centros contêm neurônios sensíveis ao calor e ao frio que respondem a pequenas variações de temperatura (Ishiwata *et al.*, 2002; Zhang *et al.*, 1997). Os neurônios sensíveis ao calor são os principais efetores tanto da perda quanto da produção de calor. Esses neurônios geram sinais excitatórios para a perda de calor e sinais inibitórios para a produção de calor através do bloqueio dos neurônios sensíveis ao frio (Boulant, 2000; Nagashima *et al.*, 2000).

A POA/AH recebem informações sobre a T_a e a T_c a partir dos receptores cutâneos e termocceptores centrais, respectivamente (McCleskey, 1997; Webb, 1995). No que concerne aos termocceptores periféricos a pele possui receptores para o frio, que aumentam sua frequência de disparos em função da diminuição da T_a , e para o calor, que elevam sua atividade em decorrência do aumento da T_a (McCleskey, 1997). A informação gerada nos receptores periféricos ascende para o SNC através do sistema somatosensorial, via trato espinotalâmico que converge a informação para o córtex passando pelo corno dorsal da medula espinhal e para a POA/AH

através da formação reticular. Já os termorreceptores centrais localizam-se em diversas áreas do SNC como a medula espinhal, hipotálamo e a POA (Ishiwata *et al.*, 2002; Zhang *et al.*, 1997). De acordo com a teoria classicamente conhecida, esses valores seriam então comparados com o valor de referência da temperatura no hipotálamo e a partir daí respostas apropriadas, que podem envolver a produção ou a perda de calor, seriam organizadas de forma a manter a T_c próxima do ponto de referência (*set point*) (Kanosue *et al.*, 2003; Werner, 1979). Recentemente Romanovsky (2004) reascendeu a discussão a respeito do conceito de ponto de referência hipotalâmico. O autor alegou que a regulação da T_c apresenta um perfil politérmico, sugerindo que os diferentes tipos de mecanismos de defesa, tanto para a perda quanto para a produção de calor, apresentam limiares de ponto de referência distintos e independentes. Dessa forma, dentro de uma ampla zona de balanço da temperatura, a T_c seria o resultado de uma transferência ativa e passiva de calor entre o animal e o ambiente ao invés de uma comparação com o valor do ponto de referência hipotalâmico.

REGULAÇÃO DA TEMPERATURA CORPORAL INTERNA (T_c) DURANTE O EXERCÍCIO FÍSICO

A atividade física promove o aumento da T_c proporcionalmente à intensidade e duração do exercício (Harri *et al.*, 1982). Essas alterações ocorrem em decorrência do metabolismo corporal aumentado para suprir as demandas energéticas dos músculos em atividade (Coyle, 2000; Galbo, 1985; Romijn *et al.*, 1993). Este aumento da T_c resulta de um desequilíbrio temporário

entre as taxas de produção e a dissipação de calor que apresentam-se diretamente relacionadas com a taxa de trabalho absoluto (Gleeson, 1998; Jessen, 1987; Webb, 1995). A contração muscular necessária para a atividade física requer a conversão de cerca de 25% da energia química produzida somente para realizar trabalho mecânico, sendo os 75% restantes convertidos em calor. Durante os primeiros minutos do exercício, denominada fase dinâmica de balanço térmico, ocorre um descompasso entre a produção e a dissipação de calor, resultando em aumento abrupto da T_c concomitantemente com o exercício (Briese, 1998). A vasoconstrição periférica mediada pelo sistema nervoso simpático (Hartley *et al.*, 1972; McAllister *et al.*, 1995) impossibilita a perda de calor durante este estágio do exercício. A produção de calor tem sido proposta como o principal fator desencadeador da resposta de dissipação de calor. A fase estável de balanço térmico do exercício inicia-se a partir do momento no qual o limiar térmico para a vasodilatação periférica (TT_{cV}) é atingido. Conseqüentemente, a perda de calor por dissipação é facilitada e se aproxima da taxa de produção de calor, provocando aumento menos acentuado da T_c . Esta, por sua vez, permanece assim até a fadiga. Quando a T_c aumenta e atinge um limite crítico, a fadiga protetora se instala independentemente dos estoques musculares de glicogênio (Fuller *et al.*, 1998; Gleeson, 1998; Gonzalez-Alonso, 1999; Walters *et al.*, 2000). A fadiga central diminui a motivação para a continuidade do exercício voluntário antes do comprometimento da integridade física do indivíduo (Kay & Marino, 2000) (Figura 1). Ainda não foi possível definir se o aumento da T_c induzido pelo exercício é devido a uma elevação do valor do ponto de referência

hipotalâmico ou se ocorre passivamente através de um acúmulo de calor (Briese, 1998; Gleeson, 1998).

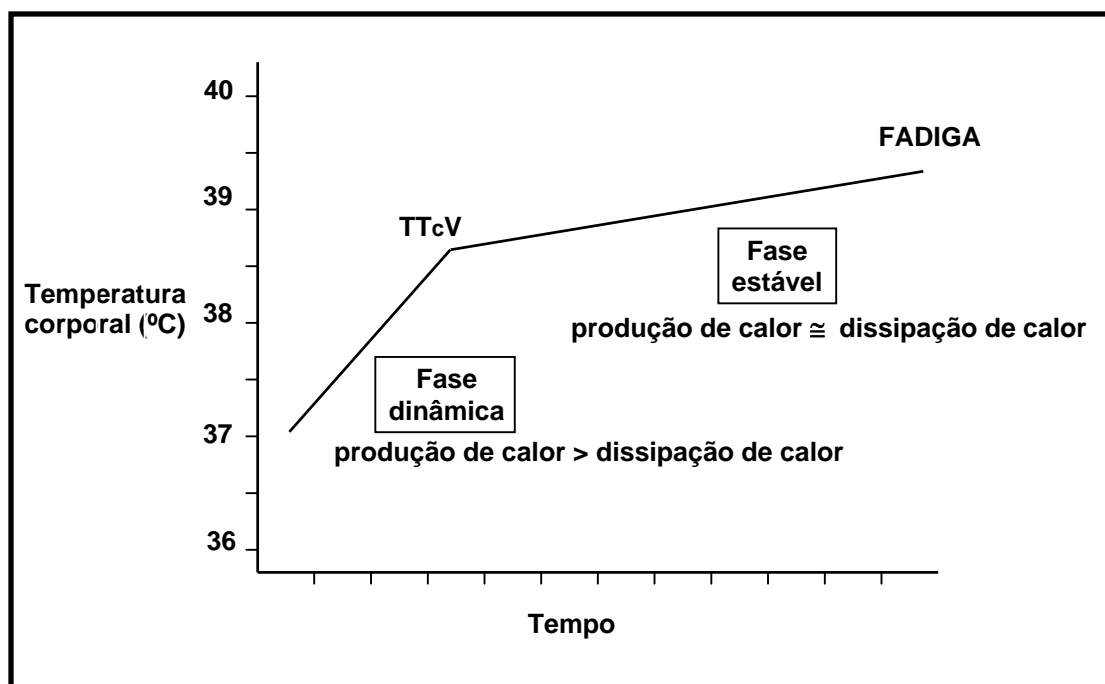


Figura 1. Gráfico ilustrativo da dinâmica entre a produção e a dissipação de calor durante as diferentes fases do exercício. TT_{cV}: limiar para vasodilatação periférica.

Em ratos, a vasodilatação da cauda é o principal meio para perda de calor do corpo durante o exercício, uma vez que não é possível a perda de calor por evaporação devido ao espalhamento de saliva sobre o corpo (Shellock & Rubin, 1984; Wilson *et al.*, 1978). Ela é responsável pela dissipação de cerca de 25% da produção de calor em repouso e por cerca de 40% durante o exercício (Young & Dawson, 1982). Assim sendo, qualquer alteração desse mecanismo irá produzir dificuldades nos ajustes da T_c.

Durante o exercício, o controle da termorregulação, principalmente no que diz respeito ao controle da vasomotricidade de órgãos especializados na troca de calor, é de fundamental importância para evitar um acúmulo

acentuado de calor. As evidências da importância da POA/AH na termorregulação surgiram de estudos envolvendo a estimulação direta dessas áreas neurais (Boulant & Dean, 1986). Trabalhos do nosso grupo de pesquisa apontaram que a POA/AH é uma região de integração para a manutenção da homeostase metabólica e térmica. Através da lesão eletrolítica dessas regiões, verificou-se que a exposição ao calor (34°C) e a temperatura normal (25° C) produziu deficiências termorregulatórias acentuadas e alterações nas concentrações plasmáticas de ácidos graxos e glicose (Coimbra & Migliorini, 1988; Santos *et al.*, 1990, 1991). Ratos expostos ao frio (0° C), que tiveram a POA/AH inibidas utilizando bloqueadores adrenérgicos, apresentaram redução da taxa metabólica (Ferreira *et al.*, 1999). Esses resultados indicam que a POA/AH é essencial para a integração de sinais térmicos com os processos energéticos metabólicos durante a adaptação a diferentes tipos de ambientes.

Estudos anteriores também mostraram que as estimulações térmica, química ou elétrica da POA/AH facilitam ou inibem as respostas termorregulatórias produzindo alterações na T_c (Carlisle & Laudenslager, 1979; Zhang *et al.*, 1995). Ishiwata *et al.* (2001) reportaram que a perfusão de tetrodotoxina, uma toxina bloqueadora dos canais de Na^+ nas membranas das células excitáveis, na POA/AH através da técnica de microdiálise, provocou hipertermia e aumento ainda mais acentuado da T_c durante a exposição em local com temperatura de 23 e 35° C, respectivamente. Em relação à exposição ao frio, não ocorreu nenhuma alteração na T_c dos ratos. Estes resultados indicaram que a POA/AH está envolvida na regulação dos mecanismos de dissipação de calor ou na inibição do sítio envolvido na produção de calor.

Posteriormente, os mesmos autores (Ishiwata *et al.*, 2002), utilizando metodologia semelhante, observaram hipertermia e aumento da frequência cardíaca, da atividade motora e da temperatura da cauda (T_{cauda}) em animais expostos à temperatura normal (23° C). Ao mesmo tempo, notaram aumento da T_c e da frequência cardíaca, mas nenhuma alteração na atividade motora e na T_{cauda} em animais expostos ao calor. Durante a exposição dos animais ao frio somente foi verificado um aumento da atividade motora, sem nenhuma alteração nos outros parâmetros. Estes dados sugerem que a POA/AH podem estar envolvidas na produção de calor e excitação e/ou inibição do tônus vasomotor.

Recentemente, demonstrou-se que a inibição da atividade neuronal da POA/AH através da infusão local de tetrodotoxina prejudica os mecanismos de perda de calor em ratos durante o exercício, produzindo aumento da T_c , diminuição da T_{cauda} e aumento da frequência cardíaca (Hasegawa *et al.*, 2005). É importante salientar que a POA/AH projeta-se para neurônios simpáticos que inervam a artéria da cauda envolvida na perda de calor em ratos (Smith *et al.*, 1998) produzindo vasodilatação da cauda quando a POA é aquecida (Ishiwata *et al.*, 2002; Kanosue *et al.*, 1994; Zhang *et al.*, 1997).

Sabe-se que o circuito neural que contribui para a termorregulação envolve várias vias nervosas. Uma das vias propostas por Pacák e Palkovits (2001) sugere que o núcleo pré-óptico medial e médio projeta-se para o núcleo paraventricular do hipotálamo (PVN). Este por sua vez, regularia funções de perda de calor através de mecanismos neuro-humorais e neuronais através de

projeções descendentes para os neurônios simpáticos pré-ganglionares da coluna intermediolateral da medula espinhal (IML). Outra via sugerida pelo autor propõe haver projeções descendentes da POA para várias regiões do cérebro, incluindo o AH, área tegmental ventral (VTA), substância cinzenta periaquedutal (PAG), formação reticular (RF) e núcleos da Rafe, responsáveis pelo controle das respostas autonômicas para regulação da temperatura, isto é, termogênese com e sem tremor, vasomotricidade, secreção salivar e resposta comportamental. De acordo com Nagashima *et al* (2000), cada resposta efetora para o controle da temperatura apresentaria uma via independente (Figura 2). A vasomotricidade possivelmente está sob controle superior do PVN que através do feixe prosencefálico medial (MFB) envia sinais para a VTA, PAG e RF. Essas, via núcleos da Rafe, desencadeiam a resposta vasomotora excitando ou inibindo os neurônios pré-motores simpáticos que se projetam para a IML. Além disso, Zhang *et al* (1997) sugeriram que os neurônios sensíveis ao calor localizados na POA enviam sinais excitatórios para neurônios vasodilatadores via parte caudal do hipotálamo lateral (LH), PAG ventrolateral e RF, e sinais inibitórios para neurônios vasoconstritores via parte dorsal da VTA. Em relação à resposta comportamental, embora seja de fundamental importância na termorregulação, pouco se conhece sobre a atuação de suas vias neurais.

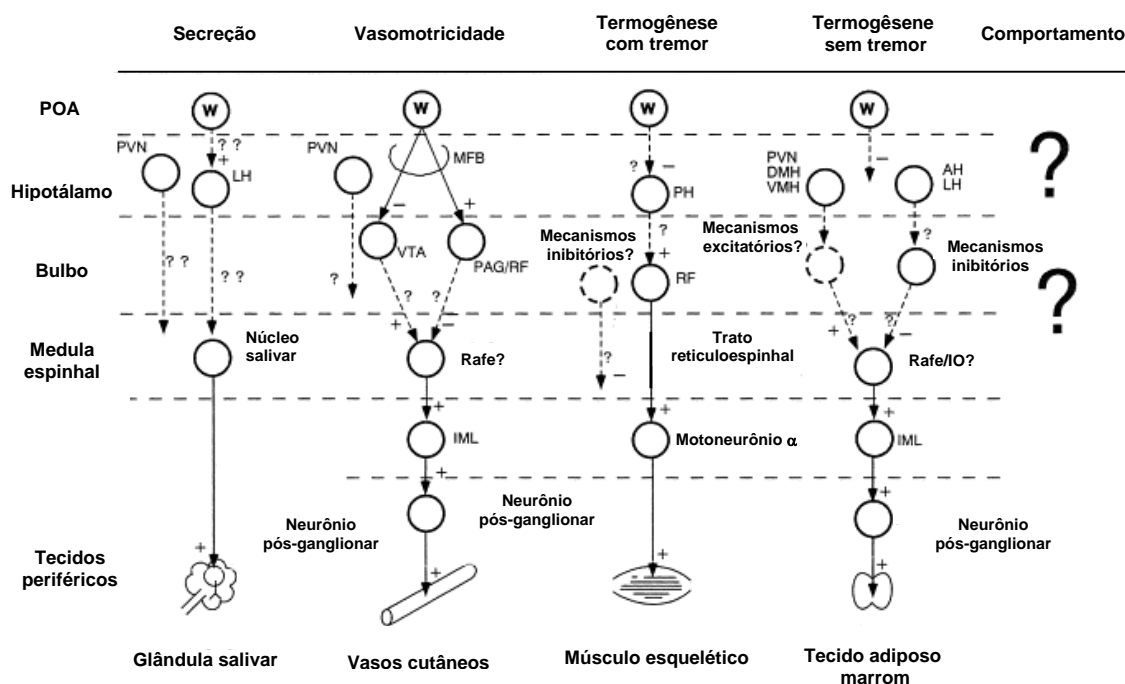


Figura 2. Esquema ilustrando as vias termorregulatórias eferentes da área pré-óptica (POA) para cada efetor termorregulatório. As linhas contínuas e descontínuas indicam conexões identificadas e não identificadas. W: neurônios sensíveis ao calor; +: estimulação; -: inibição; AH: hipotálamo anterior; DMH: hipotálamo dorsomedial; IML: coluna intermediolateral; Ol: oliva inferior; LH: hipotálamo lateral; MFB: feixe prosencefálico medial; PAG/RF: substância cinzenta periaquedutal/formação reticular; PH: hipotálamo posterior; PVN: núcleo paraventricular do hipotálamo; SN: núcleo salivar; VMH: hipotálamo ventromedial; VTA: área tegmental ventral. (Modificado a partir de Nagashima *et al*, 2000).

TEMPERATURA CORPORAL INTERNA (T_c) DURANTE O EXERCÍCIO FÍSICO E A FADIGA CENTRAL

A fadiga pode ser definida como incapacidade de manter a força ou potência requerida ou aumento da dificuldade em manter a taxa de trabalho (Nielsen & Nybo, 2003). Ela pode ter origem periférica ou central, sendo que a última é causada por falha do SNC em proporcionar motivação adequada para os músculos (Gandevia, 2001). O rápido aumento da T_c que ocorre em função do exercício físico dinâmico é um fator crítico para o desempenho físico

prolongado e parece ser uma das causas de indução da fadiga. O cérebro é especialmente vulnerável a hipertermia (Brinell *et al.*, 1987) e a prevenção da apoptose neuronal pode ser uma das razões para a determinação da fadiga. Vários estudos mostraram que uma T_c elevada limita o desempenho, sendo o tempo de fadiga inversamente relacionado com a T_c no momento do início da atividade física e diretamente relacionado com a taxa de acúmulo de calor (González-Alonso *et al.*, 1999; Lacerda *et al.*, 2005; Nielsen *et al.*, 1993; Soares *et al.*, 2004). O tempo de exaustão em ambientes quentes parece coincidir com o estabelecimento de uma T_c crítica capaz de acionar mecanismos de defesa centralmente mediados, prevenindo lesões ou mesmo morte (Fuller *et al.*, 1998). A hipertermia não impede a habilidade dos músculos de gerar força, porém, a produção de força sustentável é diminuída como consequência da motivação neural reduzida a partir do SNC (Nielsen & Nybo, 2003).

A fadiga central causada por hipertermia durante o exercício físico prolongado em ambientes quentes também pode envolver o acúmulo ou a depleção de neurotransmissores no SNC (Nielsen & Nybo, 2003). Foi sugerido que alterações na concentração de aminoácidos plasmáticos poderiam estar envolvidas na fadiga central influenciando a síntese, concentração e liberação de neurotransmissores, particularmente a serotonina (5-HT) no cérebro (Davis & Bailey, 1997). Vários estudos mostraram aumento da concentração de 5-HT no cérebro após exercício prolongado. Evidências sugerem que o aumento e a diminuição da atividade da 5-HT no cérebro durante o exercício prolongado acelera e retarda a fadiga, respectivamente, e

que manipulações nutricionais designadas para atenuar a síntese de 5-HT durante o exercício prolongado melhora o desempenho físico (Bailey *et al.*, 1992, 1993).

O SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA E A TERMORREGULAÇÃO

O sistema renina-angiotensina (SRA) é bem conhecido por seu envolvimento na regulação a curto e longo prazo da pressão arterial sangüínea. O octapeptídeo angiotensina II (ANG II) é um importante fator humoral cujo precursor angiotensinogênio é produzido principalmente pelo fígado. O angiotensinogênio é convertido na corrente sangüínea no decapeptídeo angiotensina I (ANG I) sob a ação da enzima renina produzida e liberada pelos rins. A ANG I, ao nível dos capilares pulmonares, é convertida em ANG II pela ação da enzima conversora de angiotensina (ECA). A ANG II, através da corrente sangüínea, age sistemicamente sobre vários órgãos alvo que incluem os próprios vasos sanguíneos, córtex-adrenal, rim, coração e, possivelmente, o cérebro (Page, 1987) (Figura 3).

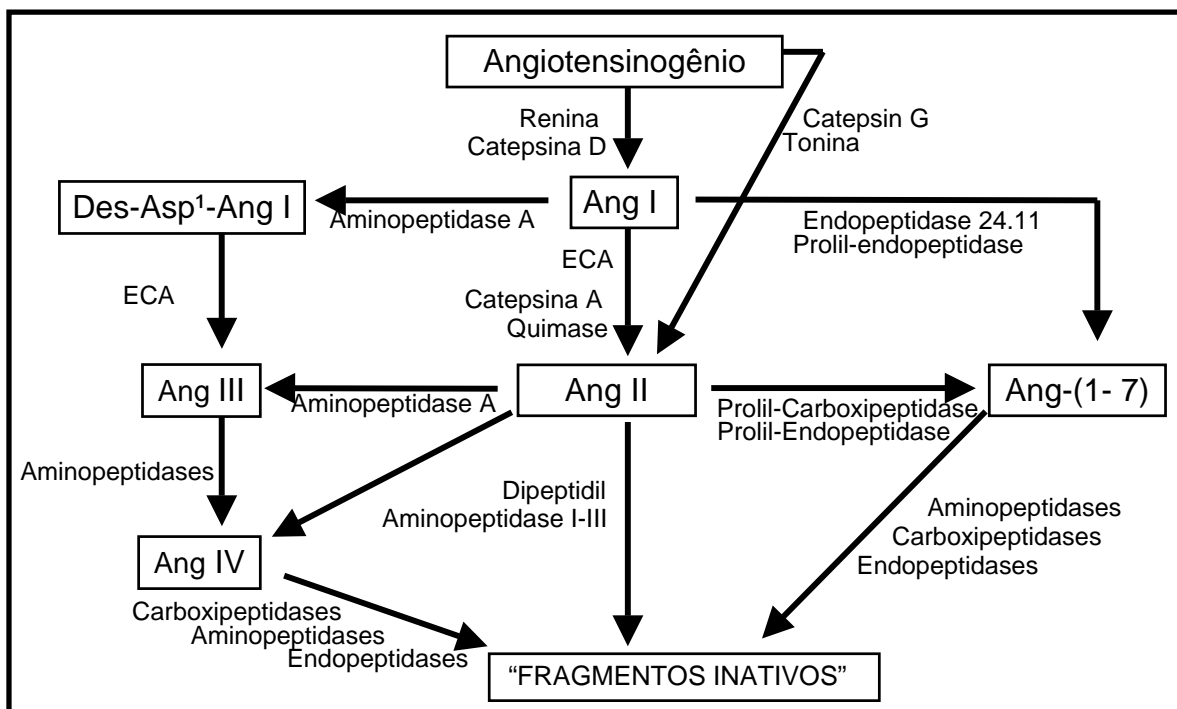


Figura 3. Cascata de formação e degradação da angiotensina II (ANG II) e outros produtos biologicamente ativos do sistema renina-angiotensina.

A ANG II é considerada o mediador primário e principal efetor do SRA apresentando várias ações bem definidas e potentes. Periféricamente, esse peptídeo exerce ação vasoconstritora direta, estimula a síntese e liberação de aldosterona pelo córtex-adrenal que induz a reabsorção de sódio e, conseqüentemente, de água pelos túbulos renais, provoca hipertrofia a longo prazo da musculatura lisa vascular e cardíaca (Timmermans *et al.*, 1993). Centralmente, a ANG II estimula diversas regiões nervosas que atuam no mecanismo de regulação cardiovascular elevando o tono simpático ao coração e aos vasos e à medula adrenal, diminuindo a sensibilidade do baroreflexo, induzindo a liberação de catecolaminas, estimulando a ingestão hídrica e de sódio, controlando e modulando a ação de hormônios adeno e neuro-

hipofisários como o ACTH, LH, prolactina e vasopressina (Davisson, 2003; Pan, 2004; Saavedra, 2004). A ANG II produz seus efeitos através dos receptores para angiotensina acoplados a proteína G do tipo 1 (AT₁) ou do tipo 2 (AT₂), sendo que a maioria das ações descritas da ANG II são mediadas pelos receptores AT₁ (Kambayashi *et al.*, 1993; Timmermans *et al.*, 1993). Estes receptores, por sua vez, são divididos nos subtipos AT_{1A} e AT_{1B} nos roedores (Inagami *et al.*, 1994).

Recentemente, tem sido investigado o papel da ANG II como um hormônio regulador da temperatura corporal. Em ratos, existem evidências de que a ANG II pode ser um neurotransmissor central estimulador de mecanismos de perda de calor. A administração sistêmica da ANG II induz uma resposta hipotérmica de maneira dose-dependente manifestada através da diminuição da taxa metabólica e da vasodilatação da cauda que eleva a dissipação de calor em ratos (T_{cauda}) (Fregly & Rowland, 1992, 1993, 1996; Wilson & Fregly, 1985 a, b; Wright & Katovich, 1996). Respostas termorregulatórias similares foram obtidas por Wilson e Fregly (1985) após a injeção intracerebroventricular (icv) de ANG II em ratos normais. Esta resposta hipotérmica induzida pela ANG II é abolida pelo tratamento com inibidores do SRA, como o inibidor da ECA captopril e o antagonista do receptor AT₁ saralasin, sugerindo que tais efeitos são mediados centralmente pela ANG II via receptor AT₁ (Fregly & Rowland, 1992; Wilson & Fregly, 1985 a, b). Desde então, o antagonista do receptor AT₁ losartan (LOS) tem sido utilizado na investigação do papel da ANG II na termorregulação. Mathai *et al* (2000) mostraram que a administração central de LOS inibia os efeitos hipotérmicos

da injeção de ANG II produzindo um aumento da T_c de forma intensa em animais expostos a temperaturas elevadas. Grobe *et al* (2004) também obtiveram resultados semelhantes, isto é, bloqueio dose dependente do efeito hipotérmico induzido pela ANG II, inclusive do aumento da T_{cauda} , em resposta à administração central e periférica de LOS. Além disso, Horowitz *et al* (1999) mostraram que a administração central de LOS eleva o limiar da temperatura para vasodilatação periférica e causa um deslocamento do limiar de evaporação durante um estresse térmico para níveis mais inferiores de T_c . Estes resultados sugerem o envolvimento de vias angiotensinérgicas centrais na termorregulação (Schwimmer *et al.*, 2004).

A ANGIOTENSINA II (ANG II) E O EXERCÍCIO FÍSICO

O exercício físico induz elevação das concentrações plasmáticas de ANG II principalmente em decorrência do aumento da concentração de renina circulante em função da atividade simpática renal aumentada. Tidgren *et al* (1991) mostraram que em humanos a elevação da intensidade da atividade durante o exercício físico dinâmico provoca aumento progressivo da concentração de ANG II plasmática. Tem sido demonstrado que a ANG II contribui para o controle da pressão arterial e redistribuição do débito cardíaco durante o exercício físico através da ação vasoconstritora direta e/ou pelo aumento da atividade simpática (Stebbins & Symons, 1995).

OBJETIVO

Levando em consideração o envolvimento da ANG II na termorregulação e na regulação da atividade simpática durante o exercício físico, e o fato de que durante a prática do exercício há acúmulo de calor corporal e elevação da ANG II periférica, o presente estudo tem como objetivo estudar a importância da ANG II central sobre as respostas termorregulatórias e seu papel no balanço térmico durante o exercício em ratos.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1) Estudar o efeito do bloqueio do receptor AT_1 através da injeção intracerebroventricular de LOS sobre as respostas termorregulatórias: temperatura corporal interna (T_c), temperatura da cauda (T_{cauda}), taxa de aquecimento corporal (BHR), taxa de acúmulo de calor (HSR), limiar de vasodilatação da cauda (TT_{cV}) em ratos não treinados submetidos ao exercício submáximo na esteira.

2) Estudar o efeito do bloqueio do receptor AT_1 através da injeção intracerebroventricular de LOS sobre o trabalho (W) realizado até a fadiga e a relação entre o balanço de calor e a determinação da fadiga em ratos não treinados submetidos ao exercício submáximo na esteira.

MATERIAL E MÉTODOS

ANIMAIS

Foram utilizados ratos Wistar adultos, com peso corporal entre 240-330 g, provenientes do Centro de Bioterismo do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais (CEBIO/UFMG). Após os procedimentos cirúrgicos, os animais foram mantidos em gaiolas individuais, com fotoperíodo de 14h luz/10h escuro, sob uma temperatura ambiente de $22 \pm 2^\circ \text{C}$, tendo livre acesso à ração para ratos (Nuvilab) e água.

Todos os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CETEA) e foram executados de acordo com o regulamento do Comitê (018/05).

PROCEDIMENTOS CIRÚRGICOS

Canulação Central

Os animais foram anestesiados com 2,2,2-tribromoetanol (2,5 %) na dose de 1 mL/100 g de peso corporal, via intraperitoneal (ip), para canulação do ventrículo cerebral lateral direito (VLD). Em seguida, eles foram submetidos à tricotomia e assepsia da região da cabeça. Foi realizada incisão longitudinal da pele e do tecido subcutâneo na porção superior da cabeça. Foi aplicado localmente dose de xilocaína (1 %, 0,1 mL; Anestésico L, Pearson) para analgesia e afastamento do periósteo.

A seguir, o animal foi adaptado ao estereotáxico para animais de pequeno porte (David Kopf Instruments, M-900, Tujunga, CA, USA). Fez-se craniotomia com o auxílio de broca odontológica (7 a 8 mm) para a implantação de cânula guia de aço inoxidável (16 mm de comprimento x 0,7 mm de diâmetro interno) no VLD. A fixação da cânula foi feita através de dois parafusos também ancorados no crânio. A cânula foi implantada obedecendo as coordenadas estereotáxicas estabelecidas pelo Atlas de De Groot (1959) cujos parâmetros foram: -1,5 mm posterior ao bregma (ântero-posterior), -2,5 mm a partir da linha mediana (látero-lateral) e -3,0 mm a partir da dura mater (vertical). A cânula guia foi conectada a um tubo de polietileno (PE 50) adaptado a manômetro contendo solução salina. O posicionamento correto da cânula na área desejada foi observado pelo deslocamento da coluna de líquido do manômetro (Antunes-Rodrigues & McCann, 1970). A cânula intracerebroventricular (icv) foi ancorada aos parafusos e fixada à calota craniana com cimento odontológico autopolimerizante. A cânula foi protegida com um capuz de polietileno PE 50 e com um mandril de nylon de modo a impedir qualquer obstrução.

Implante do Sensor de Temperatura

Durante o mesmo ato cirúrgico de canulação central, o sensor de temperatura TR3000 VM-FH (Mini Mitter, Sun River, OR) foi implantado na cavidade ip. Após assepsia e tricotomia da região abdominal, o sensor de temperatura foi inserido na cavidade ip, através das camadas musculares, por

meio de pequena incisão na linha Alba de aproximadamente 2 cm. O peritônio e a pele da região foram adequadamente suturados após o implante.

Ao término das cirurgias os animais receberam dose única de antibiótico (48.000 U - Pentabiótico Veterinário Pequeno Porte, Fort Dodge) no volume de 0,2 mL via intramuscular (0,1 mL em cada pata traseira) e analgésico/anti-inflamatório subcutâneo (Banamine injetável, 1,1 mg/Kg de peso corporal, Schering-Plough) no volume de 0,02 mL em uma das patas traseiras, via subcutânea. Foi permitido aos animais um período de recuperação de no mínimo uma semana antes de serem submetidos aos experimentos.

TEMPERATURAS AMBIENTE, CORPORAL E DA CAUDA

A temperatura corporal interna (T_c) foi registrada por telemetria utilizando o sensor de temperatura ip previamente calibrado. Para determinação da temperatura da cauda (T_{cauda}) um termistor de cauda (Yellow Springs Instruments, 409-B) foi fixado sobre a pele com esparadrapo, cerca de 10 mm de distância da base da cauda. Este termistor era conectado a um leitor digital (Yellow Springs Instruments, 4600 Precision Thermometer). A temperatura ambiente (T_a) dentro da esteira metabólica foi estabelecida por meio de um termômetro digital fixado dentro do local (Minipa, ET-1400).

EXERCÍCIO FÍSICO

A adaptação ao exercício físico constou de uma corrida diária em esteira metabólica para roedores (Columbus Instruments, OH, USA, Modular treadmill,

série 96002-2) a velocidade de 15 m/min, 5 % de inclinação da esteira, durante 5 minutos, por 4 dias consecutivos. Este procedimento foi realizado visando familiarizar o animal ao local do experimento e à direção do exercício.

Durante os experimentos, os animais foram submetidos ao exercício em esteira à velocidade constante de 18 m/min e 5% de inclinação. Esses parâmetros correspondem a um consumo de oxigênio de ~ 66 % do VO_{2max} (Brooks & White, 1978; Hussain *et al.*, 2001). O ponto de fadiga foi definido como o ponto no qual o animal não mais conseguiu manter o ritmo da esteira por mais de 10 segundos (Fuller *et al.*, 1998; Lacerda *et al.*, 2005). A estimulação elétrica utilizada foi estabelecida de acordo com a tolerância de cada animal, a ponto de causar um desconforto, sem causar dor, que o fizesse permanecer na esteira ao invés da grade de estimulação elétrica (American Physiological Society, 2006). A temperatura ambiente foi mantida dentro de uma faixa constante, entre $22 \pm 2^\circ C$, afim de evitar qualquer alteração na T_c . Os experimentos foram realizados entre 10:00 e 14:00 horas.

PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

No dia do experimento, após pesagem do animal, uma agulha (22 G) foi introduzida na cânula guia e conectada a uma seringa Hamilton para infusão das drogas por meio de um tubo de polietileno PE 10. Simultaneamente, o termistor para registro da temperatura da cauda foi fixado ao animal. Os animais foram escolhidos aleatoriamente para receber SAL e/ou LOS. Todos os experimentos foram realizados utilizando o método duplo-cego. O animal era, então, colocado no local do experimento onde permanecia por 60 minutos

para adaptação. Para a colheita dos dados durante o repouso, os animais permaneceram em repouso por mais 60 minutos na esteira metabólica.

Imediatamente antes do registro em repouso ou do início da atividade física, 2,0 μ L de 0,15 M NaCl (SAL, n = 15) ou 2,0 μ L of LOS (Merck Sharpe & Dohme, Campinas, Brasil; 60 nmol, n = 7 (13 μ g)) foram administradas no VLD. A dose de LOS utilizada foi estabelecida após a realização de um teste visando determinar uma curva dose-resposta para a droga (Gráfico 1). As doses examinadas foram 20 nmol, 30 nmol e 60 nmol. Foi selecionada a dose que apresentou diferença significativa nos parâmetros termorregulatórios. É importante frisar que a dose de LOS utilizada é descrita como inócua quando administrada periféricamente (Li *et al.*, 1993; Wang *et al.*, 2003; Zhuo *et al.*, 1994). O tempo de infusão foi de 1 minuto para evitar elevação súbita da pressão hidrostática local.

As temperaturas foram registradas durante o repouso, a cada minuto durante os 20 minutos iniciais do exercício, e a partir daí, a cada 5 minutos. A T_c e a T_{cauda} foram utilizadas para determinar o limiar de vasodilatação da cauda (TT_{cV}), isto é, a temperatura corporal interna que corresponde ao momento no qual a T_{cauda} claramente começa a se elevar (vasodilatação).

CÁLCULOS

A partir dos dados colhidos foram determinados:

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

Trabalho (W, Kgm) = m.TTE.v.sen α , onde m = massa corporal em kg; v = velocidade da esteira (m.min⁻¹); sen α = inclinação da esteira (Brooks & White, 1978; Brooks *et al.*, 1984; Lima *et al.*, 2001).

Taxa de aquecimento corporal (BHR; °C.min⁻¹) = ΔT_c /(tempo de exercício), onde ΔT_c = variação da temperatura interna ($T_f - T_i$); $T_f = T_c$ no ponto de fadiga; e $T_i = T_c$ inicial medida antes do exercício.

Taxa de acúmulo de calor (HSR; cal.min⁻¹) = $(\Delta T_c).m.c$ /(tempo de exercício), onde m = massa corporal em gramas; e c = calor específico dos tecidos do animal (0.826 cal.g⁻¹.°C⁻¹) (Gordon, 1993).

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados estão apresentados como média \pm E.P.M. As diferenças entre os tratamentos e o efeito do tempo foram avaliadas usando a análise de variância (ANOVA), seguido do teste de Newman-Keuls. Os dados também foram comparados utilizando teste t de Student pareado ou não pareado, de acordo com a sua aplicabilidade. A correlação entre BHR e TTE foi definida usando o coeficiente de correlação de Pearson. O nível de significância foi estabelecido em 5%.

RESULTADOS

Efeito da injeção icv de 2 μ L de LOS (20 nmol, n = 4; 30 nmol, n = 4; 60 nmol, n = 7) ou de 0,15 M NaCl (SAL, n = 15) na temperatura corporal interna (T_c) no ponto de fadiga.

O efeito da injeção icv de LOS sobre a T_c no ponto de fadiga se mostrou dose dependente ($r = 0,989$; $p < 0,01$). O gráfico 1 representa a T_c no ponto de fadiga após a injeção icv de SAL e/ou de diferentes concentrações de LOS (20 nmol, n = 4; 30 nmol, n = 4; 60 nmol, n = 7). Nela, observa-se o perfil dose dependente da administração de LOS durante o exercício, já que quanto maior a dose, maior foi o valor da T_c no ponto de fadiga (SAL: $38,66 \pm 0,07^\circ \text{C}$; 20 nmol: $38,77 \pm 0,21^\circ \text{C}$; 30 nmol, $38,87 \pm 0,27^\circ \text{C}$; 60 nmol, $39,07 \pm 0,1^\circ \text{C}$). Os dados de todos os animais quando tratados com SAL foram unificados, já que estes apresentaram um desempenho físico similar durante o exercício.

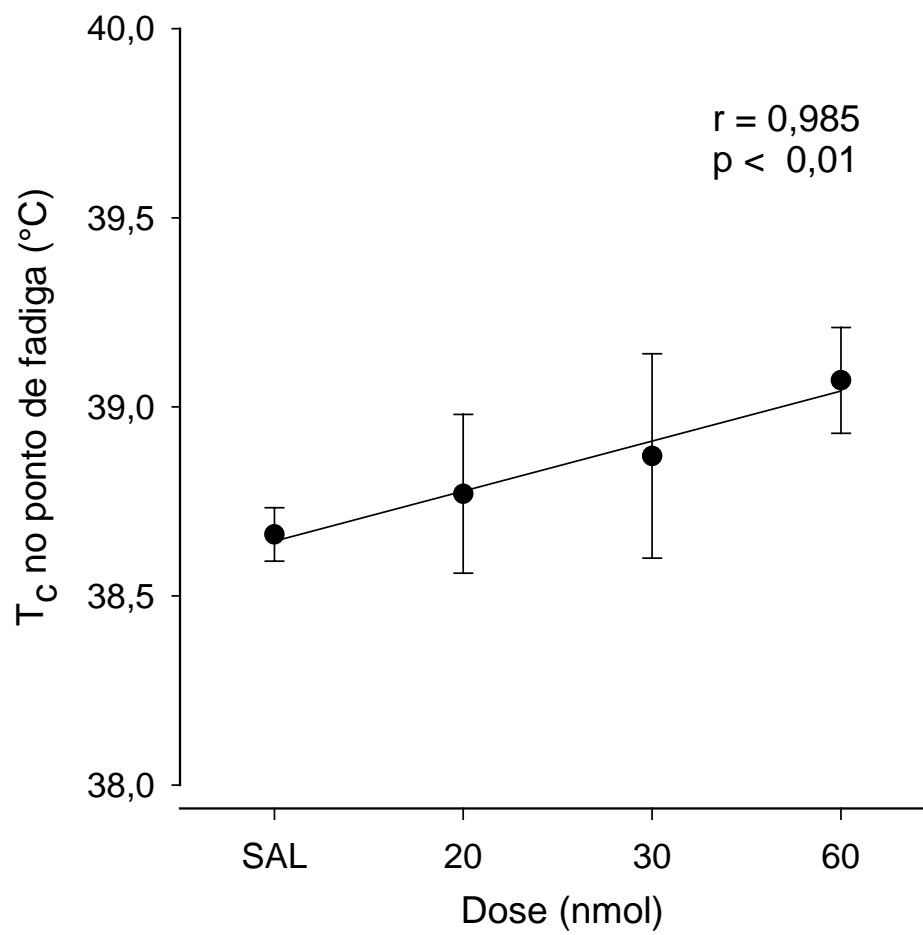


Gráfico 1. Efeito da injeção intracerebroventricular de 2 µL de LOS (20 nmol, n = 4; 30 nmol, n = 4; 60 nmol, n = 7) ou 0,15 M NaCl (SAL, n = 15) na temperatura corporal interna (T_c) no ponto de fadiga. Dados expressos como média ± EPM. r = 0,985, p < 0,01.

Efeito da injeção icv de 2 μ L de LOS (60 nmol, n = 5) ou de 0,15 M NaCl (SAL, n = 9) na temperatura corporal interna (T_c) e da cauda (T_{cauda}) durante o repouso.

Os registros da T_c e da T_{cauda} durante o período de 60 minutos de repouso não mostraram variações significativas tanto após o tratamento com SAL (n = 9) quanto após o tratamento com LOS (n = 5). A tabela 1 apresenta os valores das temperaturas imediatamente antes e após a injeção icv de SAL e/ou LOS coletados durante este período. Nota-se que tanto a administração icv de LOS quanto de SAL mantiveram a T_c e a T_{cauda} dos animais constantes ao longo dos 60 minutos de experimento, não promovendo alterações em relação aos valores basais correspondentes.

	LOS			SAL		
	Basal 60min	15 min	60 min	Basal	15 min	60 min
T_c (°C)	37,28 \pm 0,38	37,36 \pm 0,24	37,33 \pm 0,02	37,33 \pm 0,24	37,35 \pm 0,29	37,40 \pm 0,07
T_{cauda} (°C)	26,75 \pm 0,84	26,96 \pm 0,98	26,87 \pm 0,12	26,97 \pm 0,50	27,04 \pm 0,44	27,03 \pm 0,02

Tabela 1. Efeito da injeção intracerebroventricular de 2 μ L de LOS (60 nmol, n = 5) ou 0,15 M NaCl (SAL, n = 9) na temperatura corporal interna (T_c) e da cauda (T_{cauda}) durante o repouso. Dados expressos como média \pm EPM.

Efeito da injeção icv de 2 μ L de LOS (60 nmol, n = 7) ou de 0,15 M NaCl (SAL, n = 15) sobre o tempo total de exercício (TTE) e sobre o trabalho (W) durante o exercício até a fadiga.

O gráfico 2 representa as diferenças entre o TTE e W entre os animais tratados com SAL e LOS. Observa-se que a administração icv de LOS promoveu redução de 48 % no TTE durante o exercício quando comparado com os controles ($27,3 \pm 4,5$ min, LOS vs $52,5 \pm 6,7$ min, SAL, $p < 0,01$) (Gráfico 2A). Ao comparar os valores de W, nota-se que houve também redução significativa, isto é, 50 %, durante o exercício quando comparado com os controles ($6,89 \pm 1,16$ kgm, LOS vs $13,70 \pm 1,87$ kgm, SAL, $p < 0,01$) (Gráfico 2B).

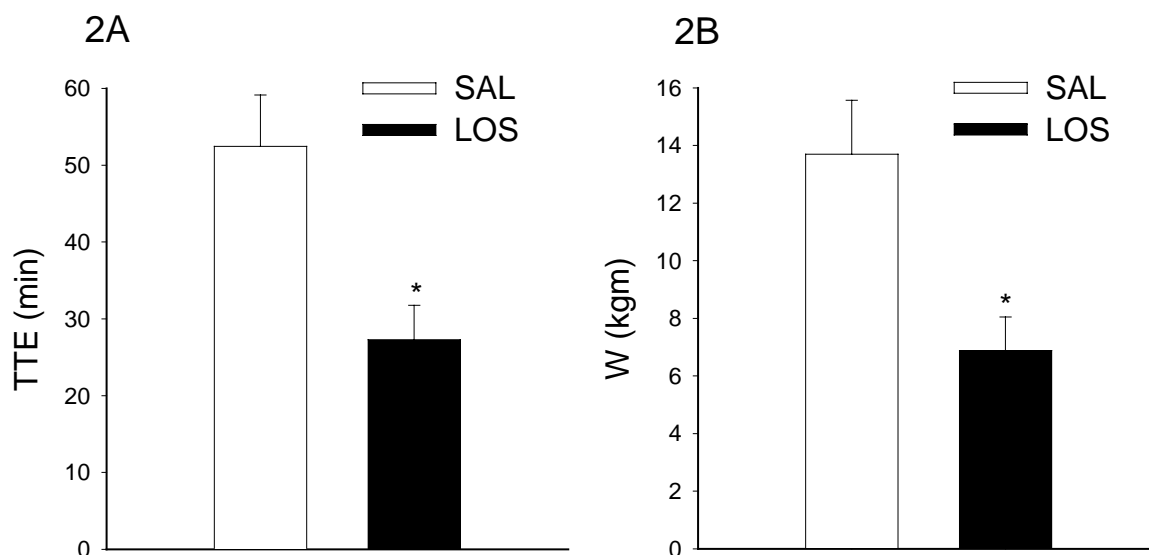


Gráfico 2. Efeito da injeção icv de 2 μ L de LOS (60 nmol, n = 7) ou de 0,15 M NaCl (SAL, n = 15) sobre o tempo total de exercício (TTE) (Gráfico 2A) e sobre o trabalho (W) (Gráfico 2B) durante o exercício até a fadiga. Dados expressos como média \pm EPM. * $p < 0.05$ comparado com grupo salina.

Efeito da injeção icv de 2 μ L de LOS (60 nmol, n = 7) ou de 0,15 M NaCl (SAL, n = 15) na temperatura corporal interna (T_c) e da cauda (T_{cauda}) durante o exercício até a fadiga.

O gráfico 3A representa a curva de evolução da T_c durante o exercício até a fadiga em ratos tratados ou não com LOS. Após o início do exercício, tanto nos animais tratados com SAL (n = 15) quanto LOS (n = 7) foi observado aumento rápido e progressivo da T_c . Este aumento foi superior nos animais tratados com LOS durante os 15 minutos iniciais da atividade, isto é, na fase dinâmica do exercício. Durante a fase estável do exercício, a T_c estabilizou 0,49° C mais elevada nos animais LOS do que nos animais SAL. Os animais que foram injetados intracerebroventricularmente com LOS apresentaram aumento médio superior da T_c durante o exercício em comparação com os animais controle ($38,52 \pm 0,18^\circ$ C, LOS, vs $38,24 \pm 0,09^\circ$ C, SAL, $p < 0,02$).

A partir do 5° minuto de exercício ($37,97 \pm 0,09^\circ$ C, LOS; $37,77 \pm 0,11^\circ$ C, SAL), tanto os ratos SAL quanto os ratos LOS apresentaram elevação de 0,19° C da T_c significativamente diferente do valor basal ($p < 0,05$). As diferenças entre os tratamentos puderam ser observadas a partir do 7° minuto ($38,31 \pm 0,11^\circ$ C, LOS, vs $37,99 \pm 0,09^\circ$ C, SAL, $p < 0,05$), e permaneceram significativamente diferentes até a fadiga. A maior diferença ocorreu no 25° minuto do início do exercício ($39,06 \pm 0,14^\circ$ C, LOS vs $38,54 \pm 0,09^\circ$ C, SAL, $p < 0,01$). Os animais tratados com LOS apresentaram T_c no ponto de fadiga 0,41° C superior à dos animais tratados com SAL ($p < 0,01$).

Em relação à T_{cauda} , comparando as curvas de evolução do gráfico 3B, podemos notar que o exercício promoveu inicialmente vasoconstrição, visualizada através da queda da T_{cauda} , que atingiu o nadir aos 4 e 5 minutos de exercício para os animais SAL e LOS, respectivamente ($26,68 \pm 0,39^{\circ} \text{ C}$, LOS; $25,82 \pm 0,34^{\circ} \text{ C}$, SAL). Esta vasoconstrição foi seguida de uma elevação gradativa do fluxo sanguíneo para a cauda constatada pela elevação da T_{cauda} . Isto indica que mecanismos de perda de calor foram ativados. A vasodilatação induzida pelo exercício foi constatada no 9º minuto de exercício para os tratados com LOS ($27,55 \pm 0,65^{\circ} \text{ C}$, LOS, $p < 0,05$), enquanto que para os tratados com SAL a diferença foi aparente a partir do 11º minuto de exercício ($28,80 \pm 0,39^{\circ} \text{ C}$, SAL, $p < 0,05$). Contudo, não houve diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos em qualquer período do exercício.

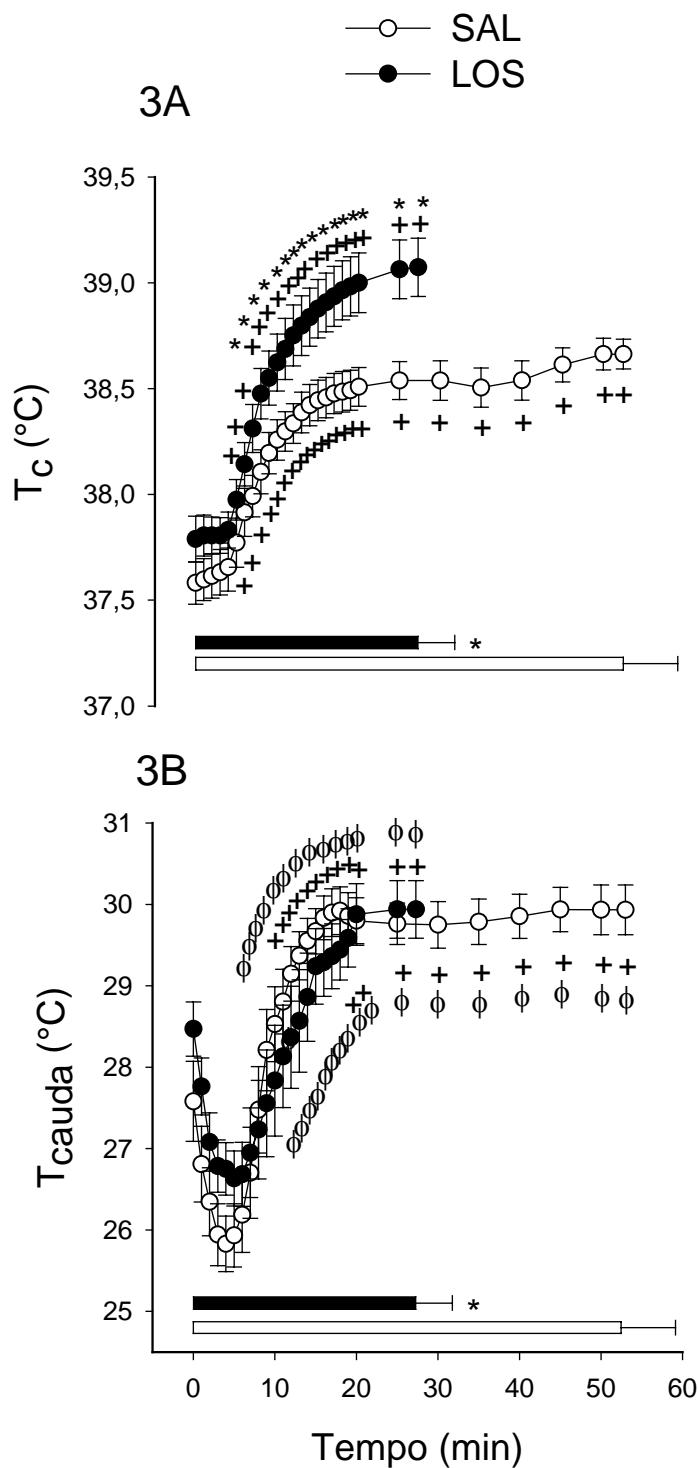


Gráfico 3. Efeito da injeção intracerebroventricular de 2 μ L de LOS (60 nmol, $n = 7$) ou 0,15 M NaCl (SAL, $n = 15$) na temperatura corporal interna (T_c) (Gráfico 3A) e da cauda (T_{cauda}) (Gráfico 3B) durante o exercício até a fadiga. As barras horizontais abaixo dos gráficos indicam o tempo de exercício até a fadiga. Dados expressos como média \pm EPM. * $p < 0.05$ comparado com grupo salina. † $p < 0.05$ comparado com valor basal correspondente. ‡ $p < 0.05$ comparado com nadir correspondente.

Efeito da injeção icv de 2 μ L de LOS (60 nmol, n = 7) ou de 0,15 M NaCl (SAL, n = 15) sobre a taxa de aquecimento corporal (BHR) e a taxa de acúmulo de calor (HSR) durante o exercício até a fadiga.

Com o intuito de comparar os efeitos térmicos em ambos os tratamentos, foram calculados a taxa de aquecimento corporal (BHR) e a taxa de calor acumulado (HSR). Os valores de cada tratamento estão ilustrados nos gráficos 4A e 4B.

Os resultados mostram que quando foi administrado o LOS, a BHR e a HSR foram 40 % e 53%, respectivamente, maiores que o observado quando da administração icv de SAL. Os valores foram: BHR: $0,05 \pm 0,01^{\circ} \text{C} \cdot \text{min}^{-1}$, LOS vs $0,03 \pm 0,00^{\circ} \text{C} \cdot \text{min}^{-1}$, SAL, $p < 0,01$; HRS: $10,92 \pm 1,48 \text{ cal} \cdot \text{min}^{-1}$, LOS vs $5,13 \pm 0,48 \text{ cal} \cdot \text{min}^{-1}$, SAL, $p < 0,01$.

A BHR e a HSR durante as fases estável e dinâmica do exercício mostraram que não houve diferenças significativas entre os tratamentos durante os dois períodos do exercício. Os valores durante a fase dinâmica foram: BHR: $0,07 \pm 0,01^{\circ} \text{C} \cdot \text{min}^{-1}$, LOS vs $0,06 \pm 0,00^{\circ} \text{C} \cdot \text{min}^{-1}$, SAL; HSR: $17,10 \pm 2,40 \text{ cal} \cdot \text{min}^{-1}$, LOS vs $14,53 \pm 1,32 \text{ cal} \cdot \text{min}^{-1}$, SAL. Já em relação à fase estável, os valores foram: BHR: $0,01 \pm 0,01^{\circ} \text{C} \cdot \text{min}^{-1}$, LOS vs $0,02 \pm 0,01^{\circ} \text{C} \cdot \text{min}^{-1}$, SAL; HSR: $5,48 \pm 2,27 \text{ cal} \cdot \text{min}^{-1}$, LOS vs $3,19 \pm 1,24 \text{ cal} \cdot \text{min}^{-1}$, SAL.

Também foi observada correlação entre o BHR e o TTE (Gráfico 4C, $r = 0,748$, $p < 0,01$).

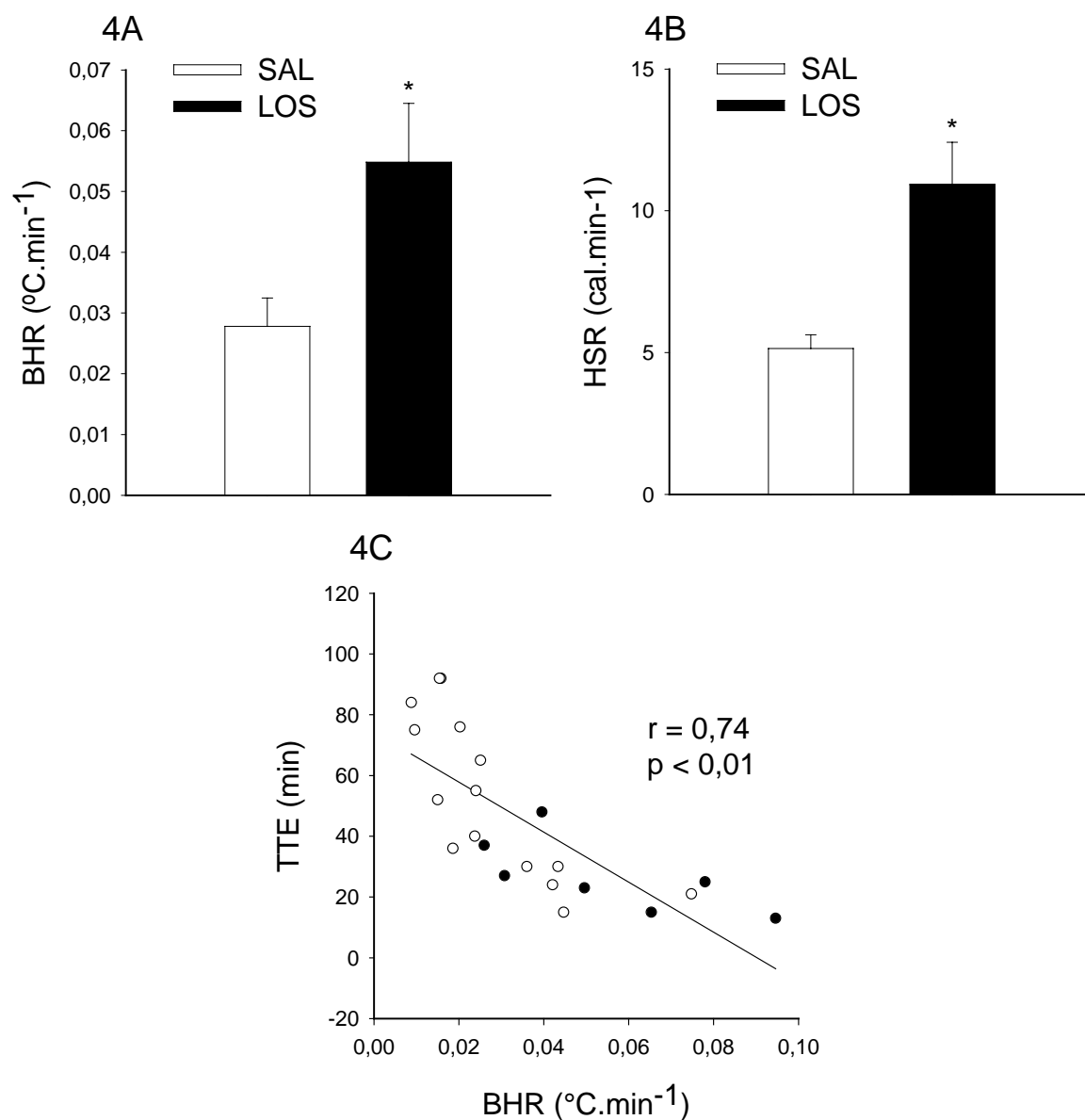


Gráfico 4. Efeito da injeção icv de 2 μL de LOS (60 nmol, $n = 7$) ou de 0,15 M NaCl (SAL, $n = 15$) sobre a taxa de aquecimento corporal (BHR) (Gráfico 4A), a taxa de acúmulo de calor (HSR) (Gráfico 4B) durante o exercício até a fadiga e correlação entre a BHR e o tempo total de exercício (TTE) (Gráfico 4C). SAL: círculo aberto; LOS: círculo fechado. Dados expressos como média \pm EPM. * $p < 0,05$ comparado com grupo salina.

Efeito da injeção icv de 2 μ L de LOS (60 nmol, n = 7) ou de 0,15 M NaCl (SAL, n = 15) sobre o limiar de vasodilatação da cauda (TT_cV) durante o exercício até a fadiga.

Para verificar se o tratamento com LOS afetaria os mecanismos de dissipação de calor durante o exercício através da vasodilatação da cauda, o TT_cV foi calculado para ambos os tratamentos. O resultado está ilustrado no gráfico 5. O valor foi 0,47° C maior para os animais tratados com LOS em comparação com os animais SAL (38,58 \pm 0,18° C, LOS vs 38,11 \pm 0,09° C, SAL, p < 0,01).

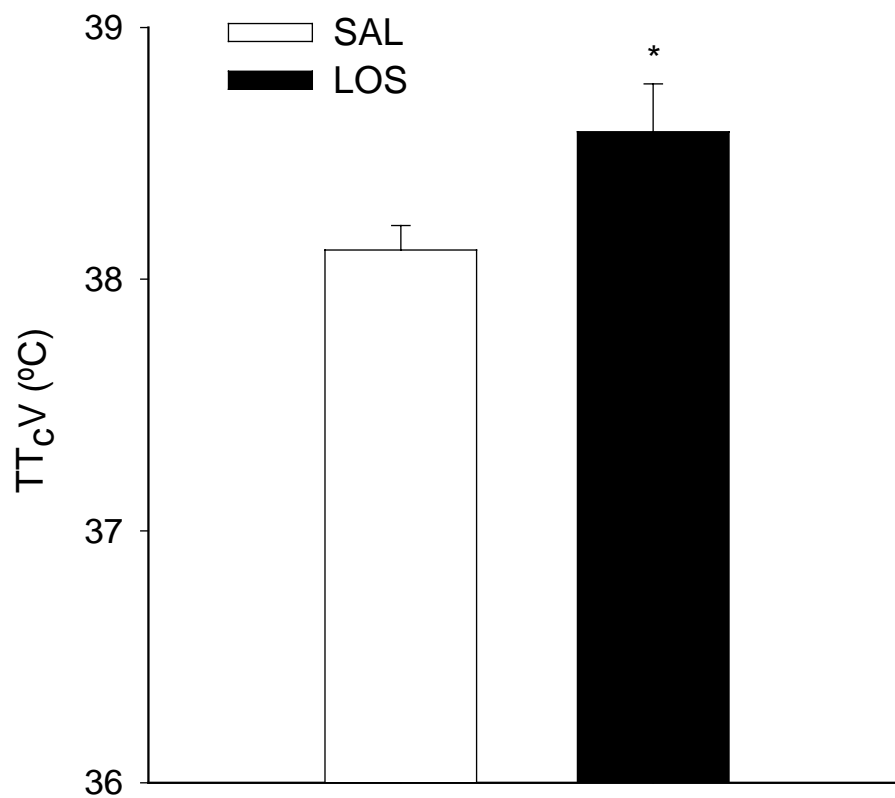


Gráfico 5. Efeito da injeção icv de 2 µL de LOS (60 nmol, n = 7) ou de 0,15 M NaCl (SAL, n = 15) sobre o limiar de vasodilatação da cauda (TT_{cV}) durante o exercício até a fadiga. Dados expressos como média ± EPM. * p < 0.05 comparado com grupo salina.

DISCUSSÃO

No presente estudo, o bloqueio do receptor AT₁ para angiotensina II através da injeção icv de LOS produziu aumento do limiar térmico de vasodilatação que mostrou-se associado à elevada taxa de aquecimento corporal e à taxa de acúmulo de calor em ratos em exercício. Esses dados sugerem que vias mediadas pela angiotensina estão envolvidas no controle termorregulatório, especialmente na regulação dos mecanismos responsáveis pela dissipação de calor. Tais vias possivelmente estão relacionadas com o reajuste dos limiares térmicos envolvidos no balanço do calor durante o exercício. Esses achados também indicam uma inibição acentuada dos mecanismos de dissipação de calor nos animais tratados com LOS, os quais apresentaram um aumento acentuado da BHR e da HSR. Este aumento resultou em T_c mais elevada durante o exercício e precipitação da fadiga.

Vários estudos têm sugerido o envolvimento do SRA e a resposta ao estresse. A concentração de angiotensina II (ANG II) circulante e tecidual apresenta-se significativamente elevada tanto em resposta ao estresse crônico quanto ao agudo (Yang *et al*, 1996). Além disso, a ANG II não age somente como um hormônio do estresse em vários órgãos periféricos, mas também como um fator que desencadeia a resposta sistêmica ao estresse a partir do SNC para os tecidos periféricos. Dessa forma, o SRA é um sistema de resposta ao estresse similar ao sistema hipotálamo-pituitária-adrenal e o sistema simpático-adrenal (Yang *et al*, 1996). Durante o exercício, uma forma de estresse na qual ocorrem uma série de respostas metabólicas e cardiovasculares para atender à demanda metabólica aumentada (Coyle, 2000; Pacák & Palkovits, 2001), foi demonstrado que a concentração de angiotensina

II arterial eleva-se em humanos (Tidgren *et al* 1991). O mesmo aumento de ANG II, em função do exercício, foi verificado nos rins por Maeda *et al* (2005).

Alguns estudos apontam evidências de que vias angiotensinérgicas centrais têm papel importante na termorregulação. Eles mostraram que a administração periférica e central de ANG II induzia uma resposta hipotérmica caracterizada pelo aumento da dissipação de calor através da vasodilatação da cauda, assim como queda da taxa metabólica e da T_c (Fregly & Rowland, 1992, 1993, 1996; Wilson & Fregly, 1985 a, b; Wright & Katovich, 1996). Grobe *et al* (2004) sugeriram que a injeção de ANG II poderia produzir uma alteração funcional do ponto de referência hipotalâmico afim de manter tais respostas. Esse mecanismo evita o acúmulo de calor exagerado e a hipertermia excessiva, mantendo a T_c dentro dos padrões normais. Assim, como observado em outros estudos sobre o efeito do LOS central nos quais o desequilíbrio térmico foi causado pela exposição ao calor (Grobe *et al.* 2004; Mathai *et al.*, 2000; Horowitz *et al.*, 1999), nossos dados mostraram que durante o exercício, uma situação na qual há aumento da produção e acúmulo de calor, o bloqueio do receptor AT_1 para ANG II utilizando o LOS foi eficaz na diminuição da dissipação de calor induzida pela ANG II. Isto é, o LOS reduziu a dissipação de calor através da cauda, levando a aumento mais acentuado da T_c (Gráfico 3A). Esses resultados apóiam a hipótese de que a ANG II possivelmente é responsável pelo reajuste dos limiares térmicos que desencadeiam as respostas de perda de calor durante o exercício (Cairns *et al.*, 2005).

O aumento da T_c que ocorre em resposta ao exercício contínuo é resultado do desequilíbrio temporário entre as taxas de produção e de dissipação de calor na fase inicial da atividade (Gleeson, 1998; Jessen, 1987; Webb, 1995). A vasoconstrição mediada pelo sistema nervoso simpático durante esse período do exercício (Hartley *et al.*, 1972; McAllister, 1995) impede a perda de calor. Conseqüentemente a T_c aumenta rapidamente até atingir o TT_{cV} , o que facilita a dissipação de calor. A partir daí, a T_c eleva-se de forma menos intensa e assim permanece até a fadiga. Esse perfil dinâmico da alteração da T_c durante o exercício foi observado no presente estudo tanto nos animais LOS quanto nos animais SAL (Gráfico 3A). Durante os primeiros 15 minutos de atividade a T_c aumentou intensamente e em seguida estabilizou em um nível elevado. Esse momento de transição coincidiu com o aumento da T_{cauda} (Gráfico 3B), o que indica que o limiar de vasodilatação periférica (TT_{cV}) foi alcançado, aumentando a quantidade de calor dissipado. O equilíbrio entre a produção de calor e a dissipação de calor resultou na estabilização da T_c .

Durante o exercício, a dissipação de calor do corpo é mais importante do que o controle da produção de calor para a regulação da T_c (Gisolfi & Mora, 2000; Webb, 1995). Em ratos em exercício, a vasodilatação da cauda é o mecanismo principal de perda de calor (Shellock & Rubin, 1984; Wilson *et al.*, 1978). Dessa forma, qualquer interferência nesse mecanismo proporciona desequilíbrio acentuado no balanço térmico de calor. Durante o presente estudo observou-se que o tratamento com LOS aumentou o TT_{cV} em relação aos animais SAL (Gráfico 5). Isto quer dizer que a vasodilatação da cauda foi induzida sob uma T_c mais elevada em comparação com os animais controle.

Assim sendo, os animais LOS tiveram um retardo da dissipação de calor através da cauda que ocasionou uma T_c superior e, conseqüentemente, um aumento da BHR e HSR (Gráfico 4A e B).

A T_c elevada e a HSR aumentada são fatores considerados limitantes durante o exercício físico prolongado (González-Alonso *et al.*, 1999; Nielsen *et al.*, 1993) que reduzem a motivação do SNC para o desempenho físico e precipitam a fadiga, afim de proteger o cérebro e manter a homeostasia (Nielsen *et al.*, 1990, 1997). Fuller *et al* (1998), estudando o efeito do exercício em esteira em ambiente aquecido na T_c em ratos, observaram menor TTE e temperaturas abdominais e hipotalâmicas similares no ponto de fadiga. Esse resultado sugeriu a existência de um valor absoluto de T_c crítico que levaria a interrupção da atividade. Resultado semelhante foi obtido por Walters *et al* (2000) que acrescentaram ser inversamente proporcional a relação entre a T_c antes do exercício e o TTE. Outros autores concluíram que a HSR era o fator determinante para a fadiga, apresentando relação inversa com o desempenho (Rodrigues *et al.*, 2003). A fadiga é considerada fenômeno complexo que integra múltiplos estímulos sensoriais que determinam o TTE tolerável em função de um VO_{2max} estabelecido (Gandevia, 2001). Assim sendo, a interrupção do exercício acontece antes que qualquer desequilíbrio na homeostase comprometa a integridade do animal. Nossos resultados mostraram que as vias centrais mediadas pela angiotensina podem ter efeito termolítico durante o exercício, melhorando os mecanismos de dissipação de calor, protegendo o cérebro da hipertermia excessiva e aumentando o desempenho físico.

Os animais LOS tiveram desempenho físico reduzido que se mostrou inversamente associado com a BHR (Gráfico 4C). A redução do TTE e do W (Gráfico 2A e B) observado neste estudo pode ter resultado da ação hipertérmica do LOS central não foi compensada pela perda de calor. Essa hipótese é apoiada pelo fato dos animais LOS terem apresentado elevada HSR e uma T_c maior no ponto de fadiga. Sabe-se que 75 % da energia metabólica consumida durante o exercício é dissipada como calor e os 25 % restantes são usados para a realização do trabalho mecânico. Para manter o balanço térmico, a produção de calor a partir dos músculos em exercício deve ser compensada pelo aumento da perda de calor. Caso contrário, a atividade resulta em uma T_c muito elevada e precipitação da fadiga. Esse fato foi observado no presente estudo, já que o bloqueio dos receptores AT_1 reduziu a dissipação de calor através da cauda o que proporcionou maior HSR e menor TTE.

O exercício físico induz padrão altamente coordenado de alterações do sistema nervoso autonômico na tentativa de manter a T_c dentro de sua amplitude normal (Rowell, 1983). Um controle vasomotor simpático diferenciado e alteração concomitante do fluxo sanguíneo são necessários para os ajustes termorregulatórios ao estresse térmico provocado pelo exercício (Kregel *et al.*, 1991; Walther *et al.*, 1970). Tais ajustes hemodinâmicos estão associados com modificações da atividade do sistema nervoso simpático, como evidenciado através da determinação da atividade das regiões esplânica, renal e cutânea (Gisolfi *et al.*, 1991). Kregel *et al.* (1994) mostraram que a injeção icv de LOS em ratos eliminava o aumento da atividade simpática do nervo esplênico em decorrência da exposição ao calor.

Essa diminuição da atividade simpática esplânica sugere que a vasoconstrição visceral foi reduzida, o que atenuou a redistribuição do volume sanguíneo para as regiões cutâneas. A redução do fluxo sanguíneo para a pele levaria a uma diminuição da transferência de calor a partir do corpo para o ambiente e produziria uma T_c elevada. Conseqüentemente, esses animais teriam habilidade reduzida de tolerar um desafio térmico. Similarmente ao efeito hipertérmico observado pelo LOS central durante a exposição ao calor (Mathai *et al.*, 2000), é possível que o bloqueio do receptor AT_1 evitou o aumento da atividade do nervo esplânico e a redistribuição do fluxo sanguíneo para pele em resposta ao aquecimento produzido pelo exercício. O elevado TT_{cV} e o retardo da vasodilatação observado nos animais LOS apóiam esse fato.

Nossos resultados sugerem que as respostas termorregulatórias provocadas pela ANG II são mediadas centralmente, uma vez que a injeção icv de LOS resultou em bloqueio dos efeitos provocados pela ANG II. Estudos bioquímicos e neurofisiológicos documentaram a presença de todos os componentes do SRA no SNC necessários para a produção e ação da ANG II (Bunnemann *et al.*, 1992; Davisson, 2003; Pan, 2004). Esta identificação levou a hipótese de que a ANG II produzida localmente funciona como um neurotransmissor ou neuromodulador para influenciar a neurotransmissão e a excitabilidade dos neurônios. Entretanto, dentro do SNC, permanece não elucidado como a ANG II é produzida localmente e os mecanismos pelos quais ela exerce suas ações através das vias centrais.

A localização exata e as vias precisas envolvidas na mediação angiotensinérgicas da termorregulação durante o exercício ainda precisam ser elucidadas. No entanto, regiões hipotalâmicas que expressam a ANG II, como a POA e o núcleo paraventricular (PVN) são possíveis sítios nos quais a ANG II pode influenciar a termorregulação durante o exercício (Tanaka & Nomura, 1993). Grande parte dos neurônios contendo ANG II, assim como altas densidades do receptor AT₁, estão localizados em núcleos do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal, onde também estão situados os centros termorreguladores. Dentre estas regiões estão o PVN, área pré-óptica (POA), hipotálamo anterior (AH) (Gehlert *et al.*, 1991; Phillips *et al.*, 1993). Em particular, o órgão subfornical (SFO) é conhecido como um sítio de ação dos efeitos da ANG II (Johnson & Gross, 1993; Mangiapane & Simpson, 1980). Portanto, também parece estar envolvido nos efeitos da ANG II sobre a termorregulação. Além disso, Fregly e Rowland (1996), após lesão do SFO, notaram que houve bloqueio das respostas térmicas induzidas pela administração periférica de ANG II. Este órgão envia comunicações eferentes para várias regiões como o núcleo pré-óptico médio e o PVN, utilizando a ANG II atuando sobre receptores AT₁, como neurotransmissor dentro da região hipotalâmica (Li & Ferguson, 1993). Outra área dentro SNC, o tecido periventricular ao redor da porção antero-lateral do terceiro ventrículo lateral (AV3V), é crucial para várias ações da ANG II central e periférica. Buggy *et al* (1988) mostraram que a lesão eletrolítica dessa região inibe ou diminui a sede e a resposta antidiurética provocada por administração central ou periférica de ANG II. Além disso, a lesão da AV3V exacerba o efeito de bradicardia e previne o aumento da frequência cardíaca intrínseca após a infusão sistêmica de ANG II (Bealer,

2002). Isto constitui forte evidência de que o SFO e a AV3V estão criticamente envolvidas na ação central da ANG II.

Desde que o SFO e a AV3V são um sítios chave, transdutores da ANG II circulante, nossos dados complementam outros resultados sobre o efeito do LOS, ao implicar o SRA na resposta ao exercício físico prolongado. A infusão de LOS quando realizada no ventrículo lateral poderia atingir os centros termoregulatórios situados no hipotálamo como também o SFO e a AV3V. Essa perfusão seria responsável pela resposta hipertérmica característica do LOS de inibição da perda de calor através do aumento do TT_cV , aceleração da BHR e da HSR e redução do desempenho físico durante o exercício prolongado.

CONCLUSÕES

Nossos resultados sugerem que o bloqueio do receptor AT₁ para ANG II durante o exercício induz aumento significativo da BHR, que rapidamente produz hipertermia e aumento do TT_cV. Além disso, o tratamento com LOS reduz o desempenho físico através da precipitação da fadiga que se mostrou intimamente associada com a BHR. Por fim, nossos dados evidenciam que a transmissão angiotensinérgica central tem efeitos importantes sobre a termorregulação durante o exercício ao produzir aumento da dissipação de calor através da vasodilatação periférica, evitando altos níveis de acúmulo de calor e protegendo o cérebro contra a hipertermia excessiva.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

American Physiological Society. Resource book for the design of animal exercise protocols. 2006.

Antunes-Rodrigues J and McCann SM. Water, sodium chloride, and food intake induced by injections of cholinergic and adrenergic drugs into the third ventricle of the rat brain. *Proc Soc Exp Biol Med* 133: 1464-1470, 1970.

Bailey SP, Davis JM, and Ahlborn EN. Effect of increased brain serotonergic activity on endurance performance in the rat. *Acta Physiol Scand* 145: 75-76, 1992.

Bailey SP, Davis JM, and Ahlborn EN. Neuroendocrine and substrate responses to altered brain 5-HT activity during prolonged exercise to fatigue. *J Appl Physiol* 74: 3006-3012, 1993.

Bealer SL. Systemic angiotensin II alters intrinsic heart rate through central mechanisms. *Brain Res Bull* 58: 61-65, 2002.

Boulant JA and Dean JB. Temperature receptors in the central nervous system. *Ann Rev Physiol* 48: 639-654, 1986.

Boulant JA. Role of the preoptic-anterior hypothalamus in thermoregulation and fever. *Clin Infect Dis* 31 Suppl 5: S157-161, 2000.

Briese E. Normal body temperature of rats: the setpoint controversy. *Neurosci Biobehav Rev* 22: 427-436, 1998.

Brinell H, Cabanac M, and Hales JRS. Critical upper levels of body temperature, tissue thermosensitivity and selective brain cooling in hyperthermia. In: *Heat Stress: Physical Exertion and Environment*, edited by Hales JRS and Richards DAB. Amsterdam: Elsevier, 1987, p. 209-240.

Brooks GA, Donovan CM, and White TP. Estimation of anaerobic energy production and efficiency in rats during exercise. *J Appl Physiol* 56: 520-525, 1984.

Brooks GA and White TP. Determination of metabolic and heart rate responses of rats to treadmill exercise. *J Appl Physiol* 45: 1009-1015, 1978.

Buggy J and Bealer SL. Physiological regulation by the AV3V region. In: *Gross, PM.*, ed. *Circumventricular organs and body fluids*. Boca Raton, FL: CRC Press, 1988, vol 1, p. 171-190.

Bunemann B, Fuxe K, and Ganten D. The brain renin-angiotensin system: localization and general significance. *J Cardiovasc Pharmacol* 19 Suppl 6: S51-62, 1992.

Cairns MJ, Burns P, Di Nicolantonio R, McKinley MJ, and Mathai ML. Influence of brain angiotensin on thermoregulation and hydromineral balance during pregnancy in rats. *J Appl Physiol* 98: 1813-1819, 2005.

Carlisle HJ and Laudenslager ML. Observations on the thermoregulatory effects of preoptic warming in rats. *Physiol Behav* 23: 723-732, 1979.

Coimbra CC and Migliorini RH. Cold-induced free fatty acid mobilization is impaired in rats with lesions in the preoptic area. *Neurosci Lett* 88: 1-5, 1988.

Coyle EF. Physical activity as a metabolic stressor. *Am J Clin Nutr* 72: 512S-520S, 2000.

Davis JM and Bailey SP. Possible mechanisms of central nervous system fatigue during exercise. *Med Sci Sports Exerc* 29: 45-57, 1997.

Davisson RL. Physiological genomic analysis of the brain renin-angiotensin system. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 285: R498-511, 2003.

Ferreira ML, Marubayashi U, and Coimbra CC. The medial preoptic area modulates the increase in plasma glucose and free fatty acid mobilization induced by acute cold exposure. *Brain Res Bull* 49: 189-193, 1999.

Fregly MJ and Rowland NE. Effect of losartan potassium and deoxycorticosterone acetate on tail skin temperature response to acute administration of angiotensin II. *Pharmacol Biochem Behav* 43: 229-233, 1992.

Fregly MJ and Rowland NE. Role of angiotensin II receptors in tail skin temperature response to isoproterenol. *Proc Soc Exp Biol Med* 203: 157-162, 1993.

Fregly MJ and Rowland NE. Centrally mediated vasodilation of the rat's tail by angiotensin II. *Physiol Behav* 60: 861-865, 1996.

Fuller A, Carter RN, and Mitchell D. Brain and abdominal temperatures at fatigue in rats exercising in the heat. *J Appl Physiol* 84: 877-883, 1998.

Galbo H. The hormonal response to exercise. *Proc Nutr Soc* 44: 257-266, 1985.

Gandevia SC. Spinal and supraspinal factors in human muscle fatigue. *Physiol Rev* 81: 1725-1789, 2001.

Gehlert DR, Gackenheim SL, and Schober DA. Autoradiographic localization of subtypes of angiotensin II antagonist binding in the rat brain. *Neuroscience* 44: 501-514, 1991.

Gisolfi CV, Matthes RD, Kregel KC, and Oppliger R. Splanchnic sympathetic nerve activity and circulating catecholamines in the hyperthermic rat. *J Appl Physiol* 70: 1821-1826, 1991.

Gisolfi CV and Mora F. *The hot brain : survival, temperature, and the human body.* Cambridge, Mass.: MIT Press, 2000.

Gleeson M. Temperature regulation during exercise. *Int J Sports Med* 19 Suppl 2: S96-99, 1998.

Gonzalez-Alonso J, Teller C, Andersen SL, Jensen FB, Hyldig T, and Nielsen B. Influence of body temperature on the development of fatigue during prolonged exercise in the heat. *J Appl Physiol* 86: 1032-1039, 1999.

Gordon CJ. Thermal biology of the laboratory rat. *Physiol Behav* 47: 963-991, 1990.

Gordon CJ. *Temperature regulation in laboratory rodents.* Cambridge [England] ; New York, NY, USA: Cambridge University Press, 1993.

Grobe J, Rowland N, and Katovich M. Role of angiotensin II and the subfornical organ in the pharmacological actions of ethanol. *Alcohol Alcohol* 39: 410-417, 2004.

Groot Jd. *The rat forebrain in stereotaxic coordinates.* Amsterdam,: Noord-Hollandsche Uitg. Mij., 1959.

Harri M, Kuusela P, and Oksanen-Rossi R. Temperature responses of rats to treadmill exercise, and the effect of thermoregulatory capacity. *Acta Physiol Scand* 115: 79-84, 1982.

Hartley LH, Mason JW, Hogan RP, Jones LG, Kotchen TA, Mougey EH, Wherry FE, Pennington LL, and Ricketts PT. Multiple hormonal responses to graded exercise in relation to physical training. *J Appl Physiol* 33: 602-606, 1972.

Hasegawa H, Ishiwata T, Saito T, Yazawa T, Aihara Y, and Meeusen R. Inhibition of the preoptic area and anterior hypothalamus by tetrodotoxin alters thermoregulatory functions in exercising rats. *J Appl Physiol* 98: 1458-1462, 2005.

Horowitz M, Kaspler P, Simon E, and Gerstberger R. Heat acclimation and hypohydration: involvement of central angiotensin II receptors in thermoregulation. *Am J Physiol* 277: R47-55, 1999.

Hussain SO, Barbato JC, Koch LG, Metting PJ, and Britton SL. Cardiac function in rats selectively bred for low- and high-capacity running. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 281: R1787-1791, 2001.

Inagami T, Guo DF, and Kitami Y. Molecular biology of angiotensin II receptors: An overview. *J Hypertens* 12: 583-594, 1994.

Ishiwata T, Hasegawa H, Yasumatsu M, Akano F, Yazawa T, Otokawa M, and Aihara Y. The role of preoptic area and anterior hypothalamus and median raphe nucleus on thermoregulatory system in freely moving rats. *Neurosci Lett* 306: 126-128, 2001.

Ishiwata T, Hasegawa H, Yazawa T, Otokawa M, and Aihara Y. Functional role of the preoptic area and anterior hypothalamus in thermoregulation in freely moving rats. *Neurosci Lett* 325: 167-170, 2002.

Jessen C. Hyperthermia and its effects on exercise performance. In: *Heat Stress: Physical Exertion and Environment*, edited by Hales JRS and Richards DAB. Amsterdam: Elsevier, 1987, p. 241-249.

Johnson AK and Gross PM. Sensory circumventricular organs and brain homeostatic pathways. *Faseb J* 7: 678-686, 1993.

Kambayashi Y, Bardhans S, Takahashi K, Tsuzuki S, Inui H, Hamakubo T, and Inagami T. Molecular cloning of a novel angiotensin II receptor isoform involved in phosphotyrosine phosphatase inhibition. *J Biol Chem* 268: 24543-24546, 1993.

Kanosue K, Yanase-Fujiwara M, and Hosono T. Hypothalamic network for thermoregulatory vasomotor control. *Am J Physiol* 267: R283-288, 1994.

Kanosue K, Romanovsky AA, Hosono T, Chen X-M, and Zhang Y-Z. "Set Point" revisited. In: *Thermal Physiology 1997*, edited by Nielsen Johannsen B and Nielsen R. Copenhagen, Denmark: The August Krogh Institute, 1997, p. 39-43.

Kay D and Marino FE. Fluid ingestion and exercise hyperthermia: implications for performance, thermoregulation, metabolism and the development of fatigue. *J Sports Sci* 18: 71-88, 2000.

Kregel KC, Stauss H, and Unger T. Modulation of autonomic nervous system adjustments to heat stress by central ANG II receptor antagonism. *Am J Physiol* 266: R1985-1991, 1994.

Kregel KC, Overton JM, Johnson DG, Tipton CM, and Seals DR. Mechanism for pressor response to nonexertional heating in conscious rat. *J Appl Physiol* 71: 191-196, 1991.

Lacerda AC, Marubayashi U, and Coimbra CC. Nitric oxide pathway is an important modulator of heat loss in rats during exercise. *Brain Res Bull* 67: 110-116, 2005.

Li Z, Bains JS, and Ferguson AV. Functional evidence that the angiotensin antagonist losartan crosses the blood-brain barrier in the rat. *Brain Res Bull* 30: 33-39, 1993.

Li Z and Ferguson AV. Subfornical organ efferents to paraventricular nucleus utilize angiotensin as a neurotransmitter. *Am J Physiol* 265: R302-309, 1993.

Lima NR, Pereira W, Reis AM, Coimbra CC, and Marubayashi U. Prolactin release during exercise in normal and adrenomedullated untrained rats

submitted to central cholinergic blockade with atropine. *Horm Behav* 40: 526-532, 2001.

Maeda S, Iemitsu M, Jesmin S, and Miyauchi T. Acute exercise causes an enhancement of tissue renin-angiotensin system in the kidney in rats. *Acta Physiol Scand* 185: 79-86, 2005.

Mangiapane ML and Simpson JB. Subfornical organ: forebrain site of pressor and dipsogenic action of angiotensin II. *Am J Physiol* 239: R382-389, 1980.

Mathai ML, Hubschle T, and McKinley MJ. Central angiotensin receptor blockade impairs thermolytic and dipsogenic responses to heat exposure in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 279: R1821-1826, 2000.

McAllister RM, Hirai T, and Musch TI. Contribution of endothelium-derived nitric oxide (EDNO) to the skeletal muscle blood flow response to exercise. *Med Sci Sports Exerc* 27: 1145-1151, 1995.

McCleskey EW. Thermoreceptors: recent heat in thermosensation. *Curr Biol* 7: R679-R681, 1997.

Nagashima K, Nakai S, Tanaka M, and Kanosue K. Neuronal circuitries involved in thermoregulation. *Auton Neurosci* 85: 18-25, 2000.

Nielsen B, Hales JR, Strange S, Christensen NJ, Warberg J, and Saltin B. Human circulatory and thermoregulatory adaptations with heat acclimation and exercise in a hot, dry environment. *J Physiol* 460: 467-485, 1993.

Nielsen B and Nybo L. Cerebral changes during exercise in the heat. *Sports Med* 33: 1-11, 2003.

Nielsen B, Savard G, Richter EA, Hargreaves M, and Saltin B. Muscle blood flow and muscle metabolism during exercise and heat stress. *J Appl Physiol* 69: 1040-1046, 1990.

Nielsen B, Strange S, Christensen NJ, Warberg J, and Saltin B. Acute and adaptive responses in humans to exercise in a warm, humid environment. *Pflugers Arch* 434: 49-56, 1997.

Pacák K and Palkovits M. Stressor specificity of central neuroendocrine responses: implications for stress-related disorders. *Endocr Rev* 22: 502-548, 2001.

Page IH. Hypertension mechanisms. *Grune & Stratton*, New York, 1987, p. 1102.

Pan HL. Brain angiotensin II and synaptic transmission. *Neuroscientist* 10: 422-431, 2004.

Phillips MI, Shen L, Richards EM, and Raizada MK. Immunohistochemical mapping of angiotensin AT1 receptors in the brain. *Regul Pept* 44: 95-107, 1993.

Ricquier D. Fundamental mechanisms of thermogenesis. *C R Biol* 329: 578-586, 2006.

Rodrigues LO, Oliveira A, Lima NR, and Machado-Moreira CA. Heat storage rate and acute fatigue in rats. *Braz J Med Biol Res* 36: 131-135, 2003.

Romanovsky AA. Do fever and anapyrexia exist? Analysis of set point-based definitions. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 287: R992-995, 2004.

Romijn JA, Coyle EF, Sidossis LS, Gastaldelli A, Horowitz JF, Endert E, and Wolfe RR. Regulation of endogenous fat and carbohydrate metabolism in relation to exercise intensity and duration. *Am J Physiol* 265: E380-391, 1993.

Rowell LB. Cardiovascular adjustments to thermal stress. In: *Handbook of Physiology. The Cardiovascular System. Peripheral Circulation and Organ Blood Flow*. Bethesda, MD: Am Physiol Soc, 1983, sect. 2, vol. III, pt. 2, chapt. 27, p. 967-1023.

Saavedra JM. Brain angiotensin II: New developments, unanswered questions and therapeutic opportunities. *Cell Mol Neurobiol* 25: 485-508, 2004.

Santos GL, Leite JV, and Coimbra CC. Metabolic adjustment induced by exposure to elevated ambient temperature is impaired in rats bearing lesions in the preoptic area. *Braz J Med Biol Res* 23: 831-834, 1990.

Santos GL, Leite JV, and Coimbra CC. Metabolic adjustments during adaptation to high ambient temperature by preoptic-lesioned rats. *Braz J Med Biol Res* 24: 1169-1172, 1991.

Schwimmer H, Gerstberger R, and Horowitz M. Nitric oxide and angiotensin II: neuromodulation of thermoregulation during combined heat and hypohydration stress. *Brain Res* 1006: 177-189, 2004.

Shellock FG and Rubin SA. Temperature regulation during treadmill exercise in the rat. *J Appl Physiol* 57: 1872-1877, 1984.

Simon E. Thermoregulation as a switchboard of autonomic nervous and endocrine control. *Jap J Physiol* 49: 297-323, 1999.

Smith JE, Jansen AS, Gilbey MP, and Loewy AD. CNS cell groups projecting to sympathetic outflow of tail artery: neural circuits involved in heat loss in the rat. *Brain Res* 786: 153-164, 1998.

Soares DD, Lima NR, Coimbra CC, and Marubayashi U. Intracerebroventricular tryptophan increases heating and heat storage rate in exercising rats. *Pharmacol Biochem Behav* 78: 255-61, 2004.

Stebbins CL, and Symons JD. Role of angiotensin II in hemodynamic responses to dynamic exercise in miniswine. *J Appl Physiol* 78: 185-190, 1995.

Stocks JM, Taylor NA, Tipton MJ, and Greenleaf JE. Human physiological responses to cold exposure. *Aviat Space Environ Med* 75: 444-457, 2004.

Tanaka J and Nomura M. Involvement of neurons sensitive to angiotensin II in the median preoptic nucleus in the drinking response induced by angiotensin II activation of the subfornical organ in rats. *Exp Neurol* 119: 235-239, 1993.

Tanaka H, Yasumatsu M, and Hasegawa H. Changes in selected ambient temperatures following physical training in rats. *Jpn J Physiol* 53: 309-312, 2003.

Tidgren B, Hjemdahl P, Theodorsson E, and Nussberger J. Renal neurohormonal and vascular responses to dynamic exercise in humans. *J Appl Physiol* 70: 2279-2286, 1991.

Timmermans PB, Wong PC, Chiu AT, Herblin WF, Benfield P, Carini DJ, Lee RJ, Wexler RR, Saye JA, and Smith RD. Angiotensin II receptors and angiotensin II receptor antagonists. *Pharmacol Rev* 45: 205-251, 1993.

Walters TJ, Ryan KL, Tate LM, and Mason PA. Exercise in the heat is limited by a critical internal temperature. *J Appl Physiol* 89: 799-806, 2000.

Walthers OE, Ikiki M, and Simon E. Antagonistic changes of blood flow and sympathetic activity in different vascular beds following central thermal stimulation. II. Cutaneous and visceral sympathetic activity during spinal cord heating and cooling in anesthetized rabbits and cats. *Pfluegers Arch* 319: 162-184, 1970.

Wang JM, Tan J, and Leenen FH. Central nervous system blockade by peripheral administration of AT1 receptor blockers. *J Cardiovasc Pharmacol* 41: 593-599, 2003.

Webb P. The physiology of heat regulation. *Am J Physiol* 268: R838-850, 1995.

Werner J. The concept of regulation for human body temperature. *J Therm Biol* 5: 75-82, 1979.

Wilson KM and Fregly MJ. Angiotensin II-induced hypothermia in rats. *J Appl Physiol* 58: 534-543, 1985.

Wilson KM and Fregly MJ. Factors affecting angiotensin II-induced hypothermia in rats. *Peptides* 6: 695-701, 1985.

Wilson NC, Gisolfi CV, Farber J, and Hinrichs DK. Colonic and tail-skin temperature responses of the rat at selected running speeds. *J Appl Physiol* 44: 571-575, 1978.

Wright BE and Katovich MJ. Effect of restraint on drug-induced changes in skin and core temperature in biotelemetered rats. *Pharmacol Biochem Behav* 55: 219-225, 1996.

Yang G, Wan Y, and Zhu Y. Angiotensin II--an important stress hormone. *Biol Signals* 5: 1-8, 1996.

Young AA and Dawson NJ. Evidence for on-off control of heat dissipation from the tail of the rat. *Can J Physiol Pharmacol* 60: 392-398, 1982.

Zhang YH, Hosono T, Yanase-Fujiwara M, Chen XM, and Kanosue K. Effect of midbrain stimulations on thermoregulatory vasomotor responses in rats. *J Physiol* 503 (Pt 1): 177-186, 1997.

Zhang YH, Yanase-Fujiwara M, Hosono T, and Kanosue K. Warm and cold signals from the preoptic area: which contribute more to the control of shivering in rats? *J Physiol* 485 (Pt 1): 195-202, 1995.

Zhuo J, Song K, Abdelrahman A, and Mendelsohn FA. Blockade by intravenous losartan of AT1 angiotensin II receptors in rat brain, kidney and adrenals demonstrated by in vitro autoradiography. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 21: 557-567, 1994.

doi:10.1152/ajpregu.00038.2006

Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol 291:603-607, 2006. First published Apr 13, 2006;

Coimbra

Laura H. R. Leite, Ana Cristina R. Lacerda, Umeko Marubayashi and Cândido C.

thermoregulation and running performance in rats Central angiotensin AT₁-receptor blockade affects

You might find this additional information useful...

This article cites 46 articles, 23 of which you can access free at:

<http://ajpregu.physiology.org/cgi/content/full/291/3/R603#BIBL>

Updated information and services including high-resolution figures, can be found at:

<http://ajpregu.physiology.org/cgi/content/full/291/3/R603>

and *Comparative Physiology* can be found at:

Additional material and information about *American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative*

<http://www.the-aps.org/publications/ajpregu>

This information is current as of August 22, 2006 .

ISSN: 0363-6119, ESN: 1522-1490. Visit our website at <http://www.the-aps.org/>.

Physiological Society, 9650 Rockville Pike, Bethesda MD 20814-3991. Copyright © 2005 by the American Physiological Society.

ranging from molecules to humans, including clinical investigations. It is published 12 times a year (monthly) by the American

illuminate normal or abnormal regulation and integration of physiological mechanisms at all levels of biological organization,

The American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology publishes original investigations that

Downloaded from ajpregu.physiology.org on August 22, 2006

CALL FOR PAPERS *Physiology and Pharmacology of Temperature Regulation*

Central angiotensin AT₁-receptor blockade affects thermoregulation and running performance in rats

Laura H. R. Leite, Ana Cristina R. Lacerda, Umeko Marubayashi, and Cândido C. Coimbra

Department of Physiology and Biophysics, Institute of Biological Sciences,

Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

Submitted 16 January 2006; accepted in final form 5 April 2006

Leite, Laura H. R., Ana Cristina R. Lacerda, Umeko Marubayashi,

and Cândido C. Coimbra. Central angiotensin AT₁-receptor

blockade affects thermoregulation and running performance in rats.

Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 291: R603–R607, 2006.

First published April 13, 2006; doi:10.1152/ajpregu.00038.2006.—

The effect of central angiotensin AT₁-receptor blockade on thermoregulation

in rats during exercise on a treadmill (18 m/min, 5%

inclination) was investigated. Core (T_b) and skin tail temperatures

were measured in rats while they were exercising until fatigue after

injection of 2 μl of losartan (Los; 20 nmol, n = 4; 30 nmol, n = 4;

60 nmol, n = 7), an angiotensin II AT₁-receptor antagonist, or 2 μl of

0.15 mol/l NaCl (Sal; n = 15) into the right lateral cerebral ventricle.

Body heat rate (BHR), heat storage rate, threshold T_b for tail vasodilation

(TT_bV), time to fatigue, and workload were calculated. During

exercise, the BHR and heat storage rate of Los-treated animals were,

respectively, 40 and 53% higher (P < 0.01) than in Sal-treated

animals. Additionally, rats injected with Los showed an increased

TT_bV (38.59 ± 0.19°C for Los vs. 38.12 ± 0.1°C for Sal, P < 0.02),

a higher T_b at fatigue point (39.07 ± 0.14°C Los vs. 38.66 ± 0.07°C

Sal, P < 0.01), and a reduced running performance (27.29 ± 4.48 min

Los vs. 52.47 ± 6.67 min Sal, P < 0.01), which was closely related

to the increased BHR. Our data suggest that AT₁-receptor blockade

attenuates heat dissipation during exercise due to the higher TT_bV,

leading to a faster exercise-induced increase in T_b, thus decreasing

running performance.

tail vasodilation; fatigue; heat balance

ACTING CENTRALLY, ANGIOTENSIN II (ANG II), exerts thermoregulatory

effects characterized by a decreased metabolic rate, a

fall in core temperature (T_b), and an increase in tail skin

temperature (T_{tail}) (43, 44, 46), through angiotensin type 1

(AT₁) receptors. These receptors are widely spread through the central nervous system (CNS), including the preoptic area/ anterior hypothalamus (POA/AH), regions of the hypothalamus considered to be the integrative centers of body temperature (5, 29, 34, 35). In addition, the subfornical organ (SFO) is critical for the central actions of ANG II (8, 14). The AT₁-receptor antagonist losartan (Los) has been used to investigate the role of ANG II in T_b. Some studies have observed that intracerebroventricular (icv) injection of Los inhibited the hypothermic effect of ANG II, producing an increase in T_b of resting animals exposed to a hot environment (7, 27). In addition, Horowitz and colleagues (17, 36) showed that central administration of Los elevates the temperature threshold for peripheral vasodilation and causes a downward shift in the threshold for evaporative cooling during heat stress, indicating the involvement of hypothalamic angiotensinergic signaling in thermoregulation. Because hypothermia and increased heat dissipation may be neuroprotective, activation of central angiotensinergic transmission may exert important effects on thermoregulation during exercise, influencing running performance. Elevated internal body temperature and increased heat storage (9, 12, 30) have been considered to be limiting factors that reduce the CNS drive for exercise performance (31, 32, 40) and precipitate feelings of fatigue, thus protecting the brain from thermal damage. It is important to emphasize that, until now, the literature has no reports on the role of thermoregulation and ANG II or Los during exercise. Therefore, the objective of this study was to assess the effects of the central administration of the AT₁-receptor antagonist Los on heat balance and threshold T_b for tail vasodilation (TT_bV) in untrained rats submitted to exercise until fatigue.

METHODS

Animals. Male Wistar rats (240–330 g) were housed individually at a room temperature of 22 ± 2°C, under 14:10-h light-dark cycles and had free access to water and rat chow. Following anesthesia achieved using 2,2,2-tribromoethanol (1 ml/100 g body wt ip), the rats were fixed to a stereotaxic apparatus (David Kopf Instruments, M-900, Tujunga, CA), and a guide cannula (22 gauge) was implanted into the right lateral cerebral ventricle using a previously described technique (23). Also during this surgical procedure, TR3000 VM-FH temperature sensor (Mini Mitter, Sun River, OR) was implanted into the peritoneal cavity through a small incision in the linea alba. All animals were allowed to recover for at least 1 wk before being submitted to the experiments. The animals were acclimatized to exercise on the motordriven treadmill by running at a speed of 15 m/min at 5% inclination for 5 min/day during four consecutive days before the experiments. All experiments were approved by the Ethics Committee for the Care and Use of Laboratory Animals of the Federal University of Minas Gerais and were carried out in accordance with the regulations described in the Committee's Guiding Principles Manual.

Experimental protocol. On the day of the experiment, the animals were allowed to rest for 1 h in the rodent treadmill chamber before being submitted to the test. A needle (30 gauge) protruding 0.3 mm from the tip of the guide cannula was introduced into the right lateral ventricle. Address for reprint requests and other correspondence: C. C. Coimbra, Departamento de Fisiologia e Biofísica, Instituto de Ciências Biológicas/UFMG, Av. Antônio Carlos, 6627, 31270-901 Belo Horizonte, MG, Brazil (e-mail: coimbrac@icb.ufmg.br).

The costs of publication of this article were defrayed in part by the payment of page charges. The article must therefore be hereby marked "advertisement" in accordance with 18 U.S.C. Section 1734 solely to indicate this fact.

Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 291: R603–R607, 2006.

First published April 13, 2006; doi:10.1152/ajpregu.00038.2006.

0363-6119/06 \$8.00 Copyright © 2006 the http://www.ajpregu.org American Physiological Society R603

Downloaded from ajpregu.physiology.org on August 22, 2006

cerebral ventricle by connecting it to a Hamilton syringe. Immediately before exercise, 2.0 μ l of 0.15 mol/l NaCl (Sal; $n = 15$) or 2.0 μ l of Los (Merck Sharpe & Dohme, Campinas, Brazil; 60 nmol, $n = 7$) were injected into the right lateral ventricle. The dose of Los used was established after a previous test performed to determine a doseresponse curve for the drug. The doses examined were 20, 30, and 60 nmol (Fig. 1). The dose that showed a significant influence on thermoregulatory parameters was selected. It is important to point out that the chosen dose of Los has been shown to be ineffective in producing thermal effects when administered via peripheral route (24, 41, 49). Rats were randomly assigned to groups receiving either Sal and/or Los solution. An interval of at least 4 days was allowed for the animal to recover between the tests. Immediately after the icv injections, the animals were submitted to running exercise until fatigue. Exercise was performed on a motor-driven treadmill (Columbus Instruments, Modular Treadmill, serial number 96002-2) between 1000 and 1400 at a room temperature of 22 \pm 2°C. The intensity of exercise (18 m/min and 5% inclination) corresponded to an oxygen uptake of 66% of maximal oxygen uptake (2, 18). Fatigue was defined as the point at which the animals were no longer able to keep pace with the treadmill (33, 39). Time to fatigue (TTF; min) and workload (kgm) were considered indexes of exercise performance. T_b was measured by telemetry. T_{tail} was measured using a probe, series 409-B (Yellow Springs Instruments), taped to the dorsal surface of the skin, 10 mm from the base of the tail. T_b and T_{tail} were used to determine the TT_bV , i.e., the T_b that corresponds to the moment at which T_{tail} clearly begins to increase (vasodilation). T_b and T_{tail} were recorded at rest, every minute during the first 20 min of exercise, and from this period on every 5 min until fatigue.

Calculations. Body heat rate (BHR; °C/min), i.e., rate of increase in T_b , was calculated as $BHR = \Delta T_b / (\text{running time interval})$, where ΔT_b is the change in T_b ($T_f - T_i$), where T_f is T_b at fatigue point, and T_i is initial T_b measured before exercise.

Heat storage rate (HSR; cal/min) was calculated (13) as: $HSR = (\Delta T_b) \cdot m \cdot c / (\text{running time interval})$, where m is the body weight in grams, and c is the specific heat of the body tissues (0.826 cal g^{-1} °C $^{-1}$).

Workload (W; kgm) was calculated as $W = [\text{body weight (kg)}] \cdot (TTF) \cdot [\text{treadmill speed (m/min)}] \cdot [\text{sine } \theta \text{ (treadmill inclination)}]$ (2, 3, 26).

Statistical analysis. The data are reported as means \pm SE. Differences between groups and the effect of time were evaluated using the ANOVA test, followed by the Newman-Keuls test. The data were also compared using paired or unpaired Student's *t*-test, as applicable. The correlation between BHR and TTF was assessed using Pearson's correlation coefficient. Significance level was set at $P < 0.05$.

RESULTS

As illustrated in Fig. 1, during exercise, the icv injection of Los induced a dose-dependent increase in T_b at fatigue point. However, after the icv injection of Los (60 nmol/2.0 μ l, $n = 5$) or Sal ($n = 9$) in normal, resting animals, T_b and T_{tail} remained stable in both experimental groups during a period of 60 min (Table 1). The data of all Sal-treated animals, which were used to compare different doses of Los, were plotted together, as these showed similar performance during exercise.

The icv injection of Los in untrained, normal rats ($n = 7$) induced a 48 and 50% decrease, respectively, in TTF ($P < 0.01$) and W (6.89 \pm 1.16 kgm Los vs. 13.70 \pm 1.87 kgm Sal, $P < 0.01$) compared with Sal-treated rats ($n = 15$) (Fig. 2, A and C). Exercise induced a rapid increase in T_b in both groups (Fig. 2A). Such increase was more intense during the first 15 min, but remained constant thereafter until the fatigue point. However, the Los animals exhibited a greater increase in T_b (38.52 \pm 0.18°C Los vs. 38.24 \pm 0.09°C Sal; $P < 0.02$). The differences in T_b between the treatments were already observed

at 7 min and remained different until fatigue. The highest difference between treatments occurred at 25 min after exercise had started ($39.06 \pm 0.14^\circ\text{C}$ Los vs. $38.54 \pm 0.09^\circ\text{C}$ Sal; $P < 0.01$). Additionally, Los-treated rats showed a higher T_b at fatigue point ($39.07 \pm 0.14^\circ\text{C}$ Los vs. $38.66 \pm 0.07^\circ\text{C}$ Sal; $P < 0.01$).

To compare the total thermal effects of exercise in both treatment groups, BHR and HSR (Fig. 2B) were calculated. During exercise, the BHR and HSR of Los-treated animals were, respectively, 40 and 53% higher ($P < 0.01$) than in the Sal-treated group. We also observed a close correlation between BHR and TTF (Fig. 3, $r = 0.748$, $P < 0.01$).

As illustrated in Fig. 2C, T_{tail} increased within 14–16 min of exercise in both groups, indicating that heat loss mechanisms Fig. 1. Effect of intracerebroventricular injection of 2 μl of losartan (Los; 20 nmol, $n = 4$; 30 nmol, $n = 4$; 60 nmol, $n = 7$) or 0.15 mol/l NaCl (Sal, $n = 15$) on core temperature (T_b) at fatigue point. Data are expressed as means \pm SE. $r = 0.989$, $P < 0.01$.

Table 1. Effect of intracerebroventricular injection of 2 μl of losartan (60 nmol) or 0.15 mol/l NaCl on resting core temperature and resting tail temperature

	Los	Sal
Baseline	15 min	60 min
T_b , $^\circ\text{C}$	37.28 ± 0.38	37.36 ± 0.24
T_{tail} , $^\circ\text{C}$	26.75 ± 0.84	26.96 ± 0.98

Values are means \pm SE; $n = 5$ [losartan (Los)], $n = 9$ [NaCl (Sal)]. T_b , core temperature; T_{tail} , tail temperature.

R604 LOSARTAN AND THERMOREGULATION DURING EXERCISE

AJP-Regul Integr Comp Physiol • VOL 291 • SEPTEMBER 2006 • www.ajpregu.org

Downloaded from ajpregu.physiology.org on August 22, 2006

had been activated. Thereafter, T_{tail} remained stable in both groups. To assess whether Los affected the heat loss mechanism, TT_bV was calculated, and results showed that values were 0.47°C higher in Los-treated rats compared with Saltreated animals (Fig. 2D, $P < 0.02$).

DISCUSSION

In the present study, AT_1 -receptor blockade by Los produced an increase in TT_bV , which was associated with elevated BHR and HSR in exercising rats. These data suggest that central angiotensin-mediated pathways are involved in thermoregulatory heat loss. Such pathways are probably responsible for the resetting of thresholds for heat balance during exercise.

These findings also indicated a stronger inhibition of heat dissipation mechanisms in Los-treated rats, which produced a marked increase in BHR and HSR, leading to higher T_b during exercise and precipitating fatigue. This is the first demonstration that central angiotensin AT_1 receptors are involved in thermoregulation and central fatigue during exercise.

The increase in body temperature that occurs in response to continuous exercise results from the temporary imbalance in the rates of heat production and dissipation during the early stage of exercise (4, 11, 20, 42). Vasoconstriction mediated by the sympathetic nervous system during this stage of exercise (15, 28) impairs heat loss. Consequently, T_b increases rapidly until it reaches the threshold for peripheral thermal vasodilation, thereby improving heat dissipation. Thereafter, T_b plateaus at a high level and remains high until fatigue.

Some studies provide evidence that central angiotensinergic pathways play an important role in thermoregulation by increasing heat dissipation through skin vasodilation as well as decreasing metabolic rate and T_b (43, 44, 46). This mechanism prevents high levels of heat storage and excessive hyperthermia.

Elevated internal body temperature and increased heat

Fig. 2. Effect of intracerebroventricular injection of 2 μl of Los (60 nmol, $n = 7$) or 0.15 mol/l Sal ($n =$

15) on T_b (A), body heat rate and heat storage rate (BHR/HSR; B), skin tail temperature (T_{tail} ; C), and on vasodilation threshold (TT_{bV} ; D) during exercise.

Time to fatigue (TTF) is indicated by the horizontal bar at bottom of A and C: Sal (open bar) and Los (solid bar). Values are expressed as means \pm SE. * $P < 0.05$ compared with Sal group.

$P < 0.05$ compared with corresponding basal value. $P < 0.05$ compared with corresponding nadir.

Fig. 3. Correlation between BHR and TTF during exercise in rats treated with 2 μ l of Los (60 nmol, $n=7$; solid circles) or 2 μ l of 0.15 mol/l Sal ($n=15$; open circles).

LOSARTAN AND THERMOREGULATION DURING EXERCISE R605

AJP-Regul Integr Comp Physiol • VOL 291 • SEPTEMBER 2006 • www.ajpregu.org

Downloaded from ajpregu.physiology.org on August 22, 2006

storage have been considered to be limiting factors (9, 12, 30)

that reduce the CNS drive for exercise performance (31, 32,

40) and precipitate feelings of fatigue, thus protecting the brain

from thermal damage. The dissipation of heat from the body is

thought to be more important than the control of heat production

in the regulation of body temperature during exercise (10,

42). In exercising rodents, tail skin vasodilation is an essential

route of heat loss from the body (12, 20, 35), and rat tails

dissipate an equivalent of 25% of resting heat production (47),

and, during exercise, the tail skin vasodilation is the primary

heat loss mechanism (37, 45). Therefore, any imbalance in this

mechanism provides severe heat loss impairment, leading to

hyperthermia. Thus, as Los treatment raised TT_{bV} , i.e., vasodilation

was induced at a higher T_b than in untreated rats, the

Los-treated rats have their heat dissipation through the tail

delayed and have increased BHR and HSR as a consequence.

On the other hand, as changes in absolute values of T_{tail} did not

differ between the groups, and ANG II has an inhibitory effect

on metabolic rate, we cannot exclude the possibility that icv

injection of Los resulted in an increase in metabolic rate,

leading in part to the enhanced hyperthermia seen in the

running rats. Similar to the hyperthermic effect of central Los

observed during heat exposure (22), it is possible that the

blockade of central AT_1 receptors prevented the increase in

splanchnic nerve activity and the redistribution of blood flow to

the skin during body heating induced by exercise. The increased

TT_{bV} and the delayed vasodilation observed in Lostreated

rats point in this direction.

Los-treated rats showed a reduced exercise performance that

was closely associated with BHR. The decrease in TTF observed

in our study might have resulted from hyperthermic

action of central Los not compensated by heat loss. The

elevated HSR and the higher T_b at fatigue point showed by rats

injected with Los support this hypothesis. The brain angiotensin-

mediated pathways may have a thermolytic effect during

exercise, improving heat loss mechanisms, protecting the brain

from excessive hyperthermia, and improving physical performance.

It is known that part of the metabolic energy consumed

during exercise is dissipated as heat, and the other part is used

to perform mechanical work. The balance between heat production

and heat loss determines internal body temperature in

homeothermic animals. To maintain the thermal balance, heat

production by exercising muscles should be counteracted by

increased heat loss. Otherwise, activity results in greater body

temperature. Furthermore, hyperthermia reduces physical performance

in many mammalian species, including rodents (9,

30, 40).

The exact location and precise pathways involved in the

angiotensinergic mediation of normal thermoregulation during exercise still require clarification. However, hypothalamic regions expressing ANG II, such as the POA and paraventricular nucleus, are possible sites at which ANG II may influence thermoregulation during exercise (14). Therefore, we hypothesized that infusion of Los into the cerebral ventricle would perfuse to the SFO and other thermoregulatory centers situated in the hypothalamus, inhibiting the heat loss response and accelerating the BHR and HSR during prolonged exercise. The POA/AH is thought to be the primary locus for body temperature regulation (1, 5, 34, 35) due to the fact that it contains both warm-sensitive and cold-sensitive neurons that respond to small changes in temperature (19, 48). Moreover, lesions or pharmacological blockade of the POA/AH has been shown to produce a severe impairment in thermoregulation (5, 6, 34, 35). It has been established that the POA/AH is an integrative region for the maintenance of metabolic, vasomotor, and thermal homeostasis (5, 6, 34, 35). It is important to point out that POA/AH cell groups project to the sympathetic outflow of the tail artery involved in heat loss in the rat (38), producing tail vasodilation when the POA is warmed (19, 21, 48). In addition, it has recently been shown that inhibition of the POA/AH by local infusion of tetrodotoxin impairs heat loss in running rats (16). A variety of studies have suggested that SFO and other adjacent areas are critical for the central actions of ANG II (7, 14) and that SFO afferent communication with paraventricular nucleus utilizes ANG II as a neurotransmitter within this hypothalamic region (25). Moreover, lesion of the SFO resulted in abolished ANG II-mediated temperature response (7). These results indicate that the POA/AH and SFO are important mediators of heat loss as opposed to heat production during exercise and might be possible sites for Los action.

In summary, icv infusion of Los induced a significant increase in BHR, which rapidly produced hyperthermia 0.41°C higher than in controls, with a significant increase in TT_bV. In addition, treatment with Los reduced exercise performance that was closely associated with BHR. Therefore, our results provide the first evidence that central angiotensinergic transmission has important effects on thermoregulation during exercise by increasing heat dissipation through peripheral vasodilation, preventing high levels of heat storage and protecting the brain against excessive hyperthermia.

ACKNOWLEDGMENTS

The technical assistance of Andre´ Luis Pimenta de Faria is acknowledged.

GRANTS

The authors are indebted to Coordenadoria de Apoio ao Pessoal de Nível Superior, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, and Fundaco de Amparo a` Pesquisa de Estado de Minas Gerais for financial support.

REFERENCES

1. **Briese E.** Normal body temperature of rats: the setpoint controversy. *Neurosci Biobehav Rev* 22: 427–436, 1998.
2. **Brooks GA and White TP.** Determination of metabolic and heart rate responses of rats to treadmill exercise. *J Appl Physiol* 45: 1009–1015, 1978.
3. **Brooks GA, Donovan CM, and White TP.** Estimation of anaerobic energy production and efficiency in rats during exercise. *J Appl Physiol* 56: 520–525, 1984.
4. **Cairns M, Burns P, Di Nicolantonio R, McKinley MJ, and Mathai ML.** Influence of brain angiotensin on thermoregulation and hydromineral balance during pregnancy in rats. *J Appl Physiol* 98: 1813–1819, 2004.
5. **Coimbra CC and Migliorini RH.** Cold-induced free fatty acid mobilization is impaired in rats with lesions in the preoptic area. *Neurosci Lett* 88: 1–5, 1988.
6. **Ferreira ML, Marubayashi U, and Coimbra CC.** The medial preoptic

area modulates the increase in plasma glucose and free fatty acid mobilization induced by acute cold exposure. *Brain Res Bull* 49: 189–193, 1999.

7. **Fregly MJ and Rowland NE.** Effect of losartan potassium and deoxycorticosterone acetate on tail skin temperature response to acute administration of angiotensin II. *Pharmacol Biochem Behav* 43: 229–233, 1992.

8. **Fregly MJ and Rowland NE.** Centrally mediated vasodilation of the rat's tail by angiotensin II. *Physiol Behav* 60: 861–865, 1996.

9. **Fuller A, Carter RN, and Mitchell D.** Brain and abdominal temperatures at fatigue in rats exercising in the heat. *J Appl Physiol* 84: 877–883, 1998.

R606 LOSARTAN AND THERMOREGULATION DURING EXERCISE
AJP-Regul Integr Comp Physiol • VOL 291 • SEPTEMBER 2006 • www.ajpregu.org

Downloaded from ajpregu.physiology.org on August 22, 2006

10. **Gisolfi CV and Mora F.** What's so important about a body temperature of 37°C? In: *The Hot Brain: Survival, Temperature, and the Human Body*, edited by Gisolfi CV and Mora F. Cambridge, MA: Massachusetts Institute of Technology Press, 2000, p. 95–119.

11. **Gleeson M.** Temperature regulation during exercise. *Int J Sports Med* 19: S96–S99, 1998.

12. **Gonzalez-Alonso J, Teller C, Andersen SL, Jensen FB, Hyldig T, and Nielsen B.** Influence of body temperature on the development of fatigue during prolonged exercise in the heat. *J Appl Physiol* 86: 1032–1039, 1999.

13. **Gordon CJ.** *Temperature Regulation in Laboratory Rodents*. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 1993, p. 8–11.

14. **Grobe J, Rowland N, and Katovich M.** Role of angiotensin II and the subfornical organ in the pharmacological actions of ethanol. *Alcohol Alcohol* 39: 410–417, 2004.

15. **Hartley LH, Mason JW, Hogan RP, Jones LG, Kotchen TA, Mougey EH, Wherry FE, Pennington LL, and Ricketts PT.** Multiple hormonal responses to graded exercise in relation to physical training. *J Appl Physiol* 33: 602–606, 1972.

16. **Hasegawa H, Ishiwata T, Saito T, Yazawa T, Aihara Y, and Meeusen R.** Inhibition of the preoptic area and anterior hypothalamus by tetrodotoxin alters thermoregulatory functions in exercising rats. *J Appl Physiol* 98: 1458–1462, 2005.

17. **Horowitz M, Kaspler P, Simon E, and Gerstberger R.** Heat acclimation and hypohydration: involvement of central angiotensin II receptors in thermoregulation. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 277: R47–R55, 1999.

18. **Hussain SO, Barbato JC, Koch LG, Metting PJ, and Britton SL.** Cardiac function in rats selectively bred for low- and high-capacity running. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 281: R1787–R1791, 2001.

19. **Ishiwata T, Hasegawa H, Yazawa T, Otokawa M, and Aihara Y.** Functional role of the preoptic area and anterior hypothalamus in thermoregulation in freely moving rats. *Neurosci Lett* 325: 167–170, 2002.

20. **Jessen C.** Hyperthermia and its effects on exercise performance. In: *Heat Stress: Physical Exertion and Environment*, edited by Hales JRS and Richards DAB. Amsterdam: Elsevier, 1987, p. 241–249.

21. **Kanouse K, Yanase-Fujiwara M, and Hosono T.** Hypothalamic network for thermoregulatory vasomotor control. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 267: R283–R288, 1994.

22. **Kregel KC, Stauss H, and Unger T.** Modulation of autonomic nervous system adjustments to heat stress by central ANG II receptor antagonism. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 266: R1985–R1991, 1994.

23. **Lacerda ACR, Marubayashi U, and Coimbra CC.** Nitric oxide pathway is an important modulator of heat loss in rats during exercise. *Brain Res Bull* 67: 110–116, 2005.

24. **Li Z, Bains JS, and Ferguson AV.** Functional evidence that the angiotensin antagonist losartan crosses the blood-brain barrier in the rat. *Brain Res Bull* 30: 33–39, 1993.

25. **Li Z and Ferguson AV.** Subfornical organ efferents to paraventricular nucleus utilize angiotensin as a neurotransmitter. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 265: R302–R309, 1993.

26. **Lima NRV, Pereira W, Reis AM, Coimbra CC, and Marubayashi U.** Prolactin release during exercise in normal and adrenalectomized untrained rats submitted to central cholinergic blockade with atropine. *Horm Behav* 40: 526–532, 2001.

27. **Mathai ML, Hubschle T, and McKinley MJ.** Central angiotensin receptor blockade impairs thermolytic and dipsogenic responses to heat exposure in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 279: R1821–R1826, 2000.

28. **McAllister RM, Hirai T, and Musch TI.** Contribution of endothelium-derived nitric oxide (EDNO) to the skeletal muscle blood flow response to

- exercise. *Med Sci Sports Exerc* 27: 1145–1151, 1995.
29. **Mendelsohn FAO, Quirion R, Saavedra JM, Aguilera G, and Catt KJ.** Autoradiographic localization of angiotensin II receptors in rat brain. *Proc Natl Acad Sci USA* 81: 1575–1579, 1984.
30. **Nielsen B, Hales JRS, Strange S, Christensen NJ, Warberg J, and Saltin B.** Human circulatory and thermoregulatory adaptations with heat acclimation and exercise in a hot, dry environment. *J Physiol* 460: 467–485, 1993.
31. **Nielsen B, Savard G, Richter EA, Hargreaves M, and Saltin B.** Muscle blood flow and muscle metabolism during exercise and heat stress. *J Appl Physiol* 69: 1040–1046, 1990.
32. **Nielsen B, Strange S, Christensen NJ, Warberg J, and Saltin B.** Acute and adaptative responses in humans to exercise in warm, humid environment. *Pflügers Arch* 434: 49–56, 1997.
33. **Rodrigues AG, Lima NRV, Coimbra CC, and Marabayashi U.** Intracerebroventricular physostigmine facilitates heat loss mechanisms in running rats. *J Appl Physiol* 97: 333–338, 2004.
34. **Santos GL, Leite JVP, and Coimbra CC.** Metabolic adjustment induced by exposure to elevated ambient temperature is impaired in rats bearing lesions in the preoptic area. *Braz J Med Biol Res* 23: 831–834, 1990.
35. **Santos GL, Leite JVP, and Coimbra CC.** Metabolic adjustment during adaptation to high ambient temperature in preoptic-lesioned rats. *Braz J Med Biol Res* 24: 1169–1172, 1991.
36. **Schwimmer H, Gerstberger R, and Horowitz M.** Nitric oxide and angiotensin II: neuromodulation of thermoregulation during combined heat and hypohydration stress. *Brain Res* 1006: 177–189, 2004.
37. **Shellock FG and Rubin SA.** Temperature regulation during treadmill exercise in the rat. *J Appl Physiol* 57: 1872–1877, 1984.
38. **Smith JE, Jansen AS, Gilbey MP, and Loewy AD.** CNS cell groups projecting to sympathetic outflow of tail artery: neural circuits involved in heat loss in the rat. *Brain Res* 786: 153–164, 1998.
39. **Soares DD, Lima NRV, Coimbra CC, and Marabayashi U.** Intracerebroventricular tryptophan increases heating and heat storage rate in exercising rats. *Pharmacol Biochem Behav* 78: 255–261, 2004.
40. **Walters TJ, Ryan KL, Tate LM, and Mason PA.** Exercise in the heat is limited by a critical internal temperature. *J Appl Physiol* 89: 799–806, 2000.
41. **Wang JM, Tan J, and Leenen FHH.** Central nervous system blockade by peripheral administration of AT₁ receptor blockers. *J Cardiovasc Pharmacol* 41: 593–599, 2003.
42. **Webb P.** The physiology of heat regulation. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 268: R838–R850, 1995.
43. **Wilson KM and Fregly MJ.** Angiotensin II-induced hypothermia in rats. *J Appl Physiol* 58: 534–543, 1985.
44. **Wilson KM and Fregly MJ.** Factors affecting angiotensin II-induced hypothermia in rats. *Peptides* 6: 695–701, 1985.
45. **Wilson NC, Gisolfi CV, Farber J, and Hinrichs DK.** Colonic and tail-skin temperature responses of the rat at selected running speeds. *J Appl Physiol* 44: 571–575, 1978.
46. **Wright B and Katovich MJ.** Effect of restraint on drug-induced changes in skin and core temperature in biotelemetered rats. *Pharmacol Biochem Behav* 55: 219–225, 1996.
47. **Young AA and Dawson NJ.** Evidence for on-off control of heat dissipation from the tail of the rat. *Can J Physiol Pharmacol* 60: 392–398, 1982.
48. **Zhang Y, Hosono T, Yanase-Fujiwara M, Chen X, and Kanosue K.** Effect of midbrain stimulations on thermoregulatory vasomotor responses in rats. *J Physiol* 503: 177–186, 1997.
49. **Zhuo J, Song K, Abdelrahman A, and Mendelsohn FA.** Blockade by intravenous losartan of AT₁ angiotensin II receptors in rat brain, kidney and adrenals demonstrated by in vitro autoradiography. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 21: 557–567, 1994.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)