

ALEX GUAZZI RODRIGUES

**INFLUÊNCIA DA ATIVAÇÃO DO SISTEMA  
COLINÉRGICO CENTRAL NO BALANÇO TÉRMICO  
DE RATOS DURANTE O EXERCÍCIO FÍSICO.**

BELO HORIZONTE – MG  
2008

# **Livros Grátis**

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

Milhares de livros grátis para download.

**ALEX GUAZZI RODRIGUES**

**INFLUÊNCIA DA ATIVAÇÃO DO SISTEMA  
COLINÉRGICO CENTRAL NO BALANÇO TÉRMICO  
DE RATOS DURANTE O EXERCÍCIO FÍSICO.**

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas do Departamento de Fisiologia e Biofísica da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito para a obtenção do título de Doutor na área de Fisiologia.

ORIENTADOR: PROF. DR. CÂNDIDO CELSO COIMBRA

CO-ORIENTADORA: PROFA. DRA. UMEKO MARUBAYASHI

BELO HORIZONTE – MG

2008

*“Há de surgir  
Uma estrela no céu  
Cada vez que ocê sorrir  
Há de apagar  
Uma estrela no céu  
Cada vez que ocê chorar  
O contrário também  
Bem que pode acontecer”*

*(Gilberto Gil)*

*Ao meu filho Arthur e à Izabel*

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Prof. Cândido Celso Coimbra, pela paciência, confiança e disponibilidade no desenvolvimento deste trabalho.

À Profa. Umeko Marubayashi, pelo exemplo e pela oportunidade de realização deste trabalho.

À Profa. Adelina Martha dos Reis, pelo constante apoio.

Ao Prof. Nilo Resende, pela inestimável colaboração no decorrer deste trabalho.

Aos meus amigos e colegas deste laboratório, pelo constante apoio e pela agradável convivência.

Ao André, à Janine e à Patrícia, pelo apoio técnico na realização deste trabalho.

À secretária do colegiado de pós-graduação Maria Célia da Silva Costa.

Aos funcionários do Departamento de Fisiologia e Biofísica.

À equipe do CEBIO, pelo cuidado com os animais utilizados neste trabalho.

Aos colegas do curso de pós-graduação.

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 e Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de

Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Fundo de Incentivo à Pesquisa da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais (FIP – PUC Minas).

## ÍNDICE

1. RESUMO .....	9
2. ABSTRACT .....	12
3. INTRODUÇÃO .....	16
3.1. TEMPERATURA CORPORAL.....	16
3.2. ÁREAS CENTRAIS ENVOLVIDAS NO CONTROLE DA DISSIPAÇÃO DE CALOR .....	19
3.3. CONTROLE DA TEMPERATURA CORPORAL DURANTE A ATIVIDADE FÍSICA.	25
3.4. ATIVIDADE MONOAMINÉRGICA CENTRAL DURANTE A ATIVIDADE FÍSICA .	30
3.5. PARTICIPAÇÃO DO SISTEMA COLINÉRGICO CENTRAL DURANTE A ATIVIDADE FÍSICA .....	35
3.6. INTERAÇÕES CENTRAIS ENTRE ACETILCOLINA E AS MONOAMINAS .....	38
4. HIPÓTESE .....	40
5. OBJETIVOS .....	41
5.1. OBJETIVO GERAL .....	41
5.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	41
6. MATERIAIS E MÉTODOS.....	42
6.1. PROCEDIMENTOS CIRÚRGICOS .....	43
6.2 ADRENODEMEDULAÇÃO BILATERAL .....	43
6.3. PROTOCOLO DA ATIVIDADE FÍSICA .....	44
6.4. REGISTRO DA TEMPERATURA CORPORAL.....	44



6.5. REGISTRO DO CONSUMO DE OXIGÊNIO .....	45
6.6. DOSAGEM DAS MONOAMINAS .....	45
6.7. PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS.....	47
6.7.1. Experimentos 1 e 2.....	48
6.7.2. Experimento 3.....	50
6.8. ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	
7. RESULTADOS ALCANÇADOS .....	51
7.1. ESTIMULAÇÃO COLINÉRGICA CENTRAL FACILITA OS MECANISMOS DE DISSIPACÃO DE CALOR EM RATOS DURANTE O EXERCÍCIO [Journal of Applied Physiology (97): 333–338; 2004].....	51
7.2. EVIDÊNCIA QUE O ACÚMULO DE CALOR INDUZIDO PELO EXERCÍCIO É DEPENDENTE DA SECREÇÃO DA MEDULA ADRENAL [Physiology & Behavior (94): 463–467, 2008] .....	53
7.3. A DISSIPACÃO DE CALOR PROMOVIDA PELA ESTIMULAÇÃO DO SISTEMA COLINÉRGICO CENTRAL DURANTE A ATIVIDADE FÍSICA ESTÁ RELACIONADA À CONCENTRAÇÃO DE SEROTONINA NA ÁREA PRÉ-ÓPTICA [artigo submetido à revista Neuroscience Letters] .....	55
8. CONCLUSÕES .....	77
9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	78

## 1. RESUMO

A elevação da temperatura corporal interna é considerada um fator limitante durante a atividade física prolongada. Para avaliar a influência do sistema colinérgico central nas respostas termorregulatórias, foi realizada a microinjeção de 2  $\mu\text{L}$  de fisostigmina ( $5 \times 10^{-3} \text{ M}$ ) (PHY) ou 0,15 M de NaCl (SAL) no ventrículo cerebral lateral de ratos não-treinados durante o repouso ou antes da realização de exercício físico em esteira rolante ( $20 \text{ m} \cdot \text{min}^{-1}$  e 5% de inclinação;  $\sim 70\%$   $\text{VO}_2$  máx). Os experimentos foram realizados em animais intactos (INT) ou adrenodemedulados (ADM) em repouso por 15 min. ou em exercício por 20 min ou até a fadiga. Os parâmetros registrados foram: temperatura corporal ( $T_c$ ), temperatura da cauda, calor acumulado (HS), consumo de oxigênio ( $\text{VO}_2$ ) e tempo total de exercício (TTE). Ao final de cada experimento, os cérebros foram cuidadosamente removidos e a área pré-óptica (APO), o hipotálamo (HP), o hipocampo (HC) e o córtex pré-frontal foram rapidamente dissecados para dosagem de serotonina (5-HT) e seu metabólito, o ácido 5-

hidroxiindoleacético (5-HIAA), pela técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

Durante a fase dinâmica do exercício de elevação da temperatura (20 min. iniciais), a adrenodemedulação atenuou o aumento da temperatura corporal induzido pela atividade física ( $0,86 \pm 0,12$  °C ADM Sal vs  $1,48 \pm 0,21$  °C INT Sal), reduzindo o acúmulo de calor. A injeção icv de PHY, nos ratos ADM, promoveu uma redução significativa no aumento da Tc ( $0,012 \pm 0,10$  °C·min<sup>-1</sup> Phy vs  $0,042 \pm 0,006$  °C·min<sup>-1</sup> Sal;  $p < 0,02$ ) e do HS ( $65,8 \pm 56,1$  cal Phy vs  $207,7 \pm 32,7$  cal Sal;  $p < 0,04$ ) comparado aos ratos ADM Sal. Os animais INT tratados com PHY mostraram um menor acúmulo de calor ( $285 \pm 37$  cal, PHY vs  $436 \pm 34$  cal, SAL;  $p < 0,02$ ) e uma Tc menor no momento de fadiga ( $38,5 \pm 0,1$ °C; PHY vs  $39,0 \pm 0,1$ °C; SAL;  $p < 0,05$ ). Apesar do menor calor acumulado e Tc na fadiga, os ratos tratados com PHY apresentaram um tempo de corrida similar ao grupo SAL.

Durante o repouso, o grupo INT tratado com PHY mostrou um conteúdo maior de 5-HT e 5-HIAA no HP e no HC comparados ao grupo controle. Durante os 20 min. iniciais, os animais INT tratados com PHY, apresentaram níveis menores de 5-HT e de 5-HIAA na APO. Contudo, no hipotálamo, os níveis de 5-HT foram superiores comparados aos animais INT tratados com SAL. Ao final do exercício, a estimulação colinérgica promoveu uma redução no conteúdo de 5-HT na APO e uma elevada atividade serotoninérgica no hipocampo e no hipotálamo comparados aos animais em repouso ou em exercício. Além disso, observou-se uma

correlação positiva entre HS e 5-HT na APO, estimulada pela PHY. O mesmo resultado também foi observado para 5-HIAA nesta área. Contudo, não houve correlação entre HS e 5-HT ou 5-HIAA no hipocampo. Nossos resultados fornecem evidências que a estimulação colinérgica reduz o conteúdo de 5-HT na APO e o calor acumulado durante o exercício. E ainda, os níveis de 5-HIAA no hipocampo parecem não influenciar os processos de termorregulação.

Concluindo, a ativação do sistema colinérgico central, durante o exercício físico, aumenta a dissipação de calor e atenua o aumento da temperatura corporal induzido pela atividade física sem afetar o desempenho físico. Além disso, a ativação dos mecanismos de dissipação pelo sistema colinérgico central durante o exercício físico ocorre independentemente da supressão da secreção da medula adrenal e pode ser favorecida pela adrenodemedulação. Nossos dados indicam a existência de um duplo mecanismo de controle da perda de calor durante a fase dinâmica do exercício: um envolvendo a ativação do sistema simpatoadrenal que impede a perda de calor e outro, que compensa o aumento da atividade simpatoadrenal através do sistema colinérgico hipotalâmico promovendo a dissipação de calor. Este efeito parece ser mediado pela redução dos níveis de serotonina na área pré-óptica.

## 2. ABSTRACT

Increased internal body temperature has been considered to be a limiting factor during prolonged physical exercise. In order to evaluate the influence of central cholinergic system in thermoregulatory responses, 2 $\mu$ L of physostigmine ( $5 \times 10^{-3}$  M) (PHY) or 0.15 M NaCl solution (SAL) was microinjected into the lateral cerebral ventricle of untrained

rats during resting period or before exercise on a treadmill ( $20\text{m}\cdot\text{min}^{-1}$  and 5% inclination;  $\sim 70\%$   $\text{VO}_2$  máx). The experiments consisted of data registration for 15 min during resting period or during 20 min of exercise or during exercise until fatigue in intact (INT) or adrenomedullated (ADM) animals. The parameters measured were: core temperature ( $T_c$ ), tail temperature, heat storage (HS), oxygen consumption ( $\text{VO}_2$ ) and total time of exercise (TTE). At the end of each experiment, brains were quickly removed and preoptic area (POA), hypothalamus (HP), frontal cortex (FC) and hippocampus (HC) were rapidly dissected for measurement of serotonin (5-HT) and their metabolite 5-hydroxyindoleacetic acid (5-HIAA) by HPLC method.

During the dynamic phase of exercise (first 20 min), ADM attenuated the exercise-induced increase in  $T_c$  ( $0.86 \pm 0.12$  °C ADM Sal vs  $1.48 \pm 0.21$  °C INT Sal), thus reducing HS levels. Icv injection of Phy in ADM rats significantly reduced the increase in  $T_c$  ( $0.012 \pm 0.10$  °C $\cdot\text{min}^{-1}$  Phy vs  $0.042 \pm 0.006$  °C $\cdot\text{min}^{-1}$  Sal;  $p < 0.02$ ) and HS ( $65.8 \pm 56.1$  cal Phy vs  $207.7 \pm 32.7$  cal Sal;  $p < 0.04$ ) compared to ADM Sal rats. During exercise until fatigue, the INT PHY-treated animals showed a lower heat storage ( $285 \pm 37$  cal, PHY vs  $436 \pm 34$  cal, SAL;  $p < 0.02$ ) and lower  $T_c$  at fatigue point ( $38.5 \pm 0.1$ °C, PHY vs  $39.0 \pm 0.1$ °C, SAL;  $p < 0.05$ ). However, despite the lower core heating rate, HS and  $T_c$  at fatigue, the PHY-treated rats showed a similar running time to the SAL-treated group.

During resting period, INT PHY-treated rats showed the highest content of 5-HT and 5-HIAA in the HP and HC. During the dynamic phase

of exercise, the INT PHY-treated rats showed the lowest levels of 5-HT and 5-HIAA in APO. However, in HP, the levels of 5-HT was higher compared to INT SAL-treated rats. At fatigue point, the cholinergic stimulation promoted a reduction in 5-HT content in the POA and an elevated serotonergic activity in the HC and HP compared to the rested and SAL-exercised animals. Furthermore, a positive correlation between HS and 5-HT in POA stimulated by PHY was also observed. The same result was also found regarding 5-HIAA in this area. However, there was no correlation between 5-HT or 5-HIAA content and HS in HC. Our results bring further evidences that cholinergic stimulation reduces 5-HT content in POA and HS during exercise. Furthermore, the 5-HIAA level and serotonergic activity in hippocampus seems to have no influence on thermoregulation process.

In conclusion, the activation of central cholinergic system during exercise increases heat dissipation and attenuates the exercise-induced increase in core temperature without affecting running performance. Furthermore, the activation of heat loss mechanisms by the central cholinergic system during exercise occurs independently of adrenal medullary secretion suppression and can be improved by previous adrenodemedullation. Our data indicate the existence of a dual mechanism of heat loss control during the dynamic phase of exercise: one involving sympathoadrenal system activation that impairs heat loss and another that counteracts the increased sympathoadrenal activity

through the hypothalamic cholinergic system to promote heat loss. This effect seems to be mediated by decreased 5-HT levels in APO.



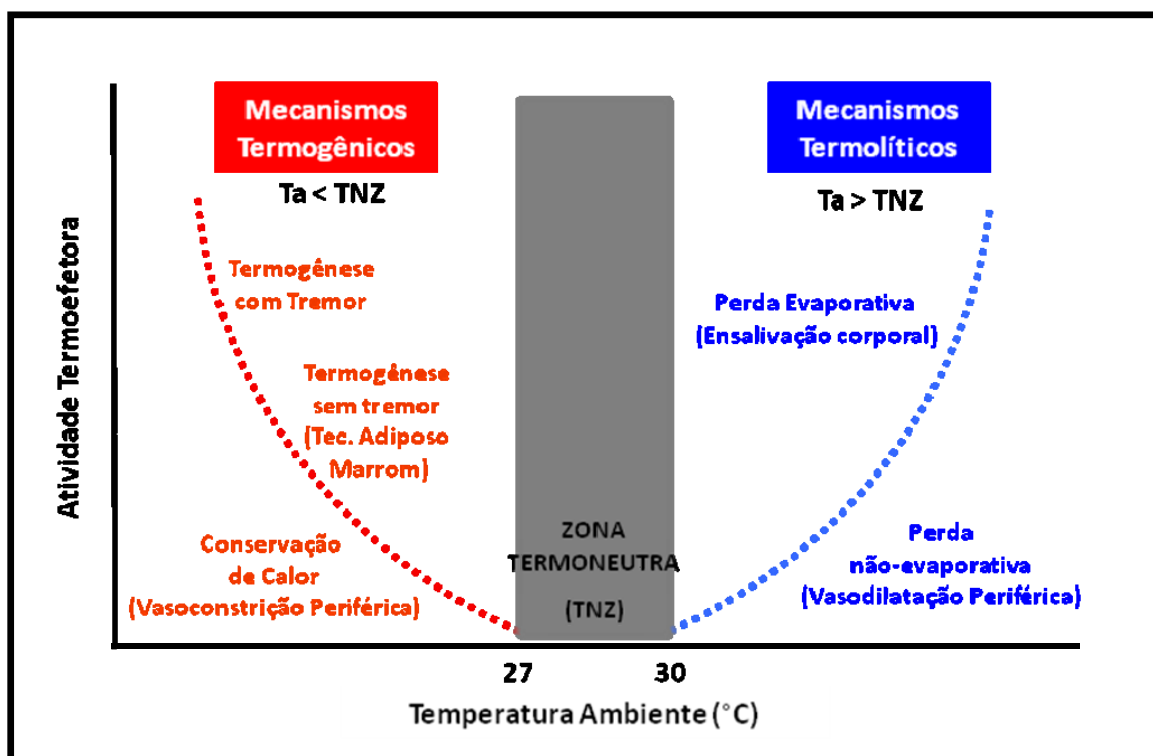
### 3. INTRODUÇÃO

#### 3.1. TEMPERATURA CORPORAL

Os animais homeotérmicos mantêm sua temperatura corporal dentro de uma estreita faixa de variação (Cheuvront & Haymes, 2001; Briese, 1998; Webb, 1995). No entanto, é o valor da temperatura cerebral o fator determinante da atividade dos mecanismos envolvidos na homeostase térmica (Nybo, 2008).

A temperatura corporal ( $T_c$ ) é o resultado do balanço térmico entre a produção de calor metabólico e a sua dissipação, sendo mantida através de um conjunto de ajustes comportamentais e autonômicos denominados atividade termofetora (Fig. 1) (Chen e cols., 1998; Maickel e cols., 1988). As respostas efetoras variam de acordo com a temperatura do ambiente no qual o animal se encontra e estas mantêm um estado de equilíbrio dinâmico entre a produção e a perda de calor corporal (Gordon, 1990). Sendo assim, a atividade termofetora está em função da temperatura ambiente ( $T_a$ ) e pode apresentar três fases distintas nos animais homeotérmicos (Gordon, 1990). Existe uma faixa de  $T_a$ , chamada zona termoneutra (ZTN), onde a atividade metabólica é mínima e a  $T_c$  é regulada primariamente através da modulação do tônus vasomotor periférico e da variação da taxa metabólica. Com o aumento da  $T_a$  acima desta faixa ocorre a ativação dos mecanismos termolíticos, que em ratos são caracterizados

pela ensalivação corporal e pela vasodilatação periférica, principalmente através da cauda (Webb, 1995). Em situações de ambiente frio, ocorre a ativação dos mecanismos termogênicos através da piloereção e vasoconstrição periférica, enquanto que o aumento da produção de calor ocorre através da elevação da atividade muscular esquelética (termogênese por tremor) ou através de ação neural (tônus simpático) e hormonal promovendo aumento na atividade metabólica corporal (termogênese sem tremor) (Maickel e cols., 1988). Em ratos, o tecido adiposo marrom é o principal responsável pela produção de calor sem tremor (Landsberg e cols., 1984; Gordon, 1990) que é regulada pela secreção de NA através da inervação simpática e é mediada por receptores  $\beta_1$ -adrenérgicos (Sell e cols., 2004).



**FIGURA 1:** Dependência dos mecanismos autonômicos de regulação da temperatura corporal ( $T_c$ ) em relação à zona termoneutra (ZTN) em mamíferos. A exposição ao frio ( $T_a < \text{ZTN}$ ) ativa os mecanismos termogênicos e inibe os mecanismos termolíticos. O

contrário ocorre durante a exposição ao calor ( $T_a > ZTN$ ). Ver texto para mais detalhes. Adaptado de Almeida (2006).

A manutenção da homeostase térmica através da atividade termoeffetora sugere que a temperatura cerebral seja controlada por um mecanismo similar a um termostato que utiliza um valor de referência (*set point*) para a conservação deste estado. A noção de um valor de referência para controle da atividade termorregulatória foi primeiramente proposta por J. D. Hardy em 1961. Ele considerou este parâmetro como uma informação fornecida que pode ser determinada por um sinal externo com a qual a variável regulada é comparada, ou então pode ser determinado pelas características estruturais do próprio sistema. No entanto, H. T. Hammel (1963) refinou este conceito, propondo um modelo de referência ajustável, onde uma rede neuronal hipotalâmica é responsável pelo controle da atividade termoeffetora e a resultante desta atividade neuronal mantém a homeostase térmica.

Atualmente, um novo modelo propõe que a homeostase térmica não seja dependente de um valor de referência, mas sim de uma faixa de referência resultante da mudança dos limiares da atividade termoeffetora em função de uma determinada situação (Romanovsky, 2004). Dessa maneira, Romanovsky (2007) considera que os efetores termogênicos e os termolíticos, que constituem o sistema termorregulatório, são independentes e podem apresentar limiares variáveis para desencadear sua atividade. Além disso, os valores de referência seriam uma faixa de variação dependendo do balanço (ou

equilíbrio) térmico entre os limiares de estimulação de mecanismos termogênicos e termolíticos.

Considerando que a homeostase térmica seja uma resultante das variáveis termogênicas (primária) e termolíticas (secundária), torna-se evidente a importância da realização de estudos para investigar o limiar calor corporal para desencadear os mecanismos termorregulatórios.

### 3.2. ÁREAS CENTRAIS ENVOLVIDAS NO CONTROLE DA DISSIPAÇÃO DE CALOR

A regulação da temperatura corporal deve ser considerada como um processo que envolve a combinação de componentes autonômicos, endócrinos, metabólicos e comportamentais (Arancibia e cols., 1996). A observação mais importante realizada para a compreensão da regulação da atividade termofetora foi a identificação da termossensibilidade hipotalâmica (Hammel e cols, 1960). A partir disso, Nakayama e cols. (1961) identificaram a presença de neurônios termossensíveis à elevação da temperatura no hipotálamo anterior e, finalmente, a área pré-óptica do hipotálamo anterior (APO) foi considerada a região integradora dos processos termorregulatórios (Hammel e cols., 1963). A partir de então, diversos estudos têm sido realizados com o objetivo de entender o funcionamento desta região no controle do sistema termorregulatório, tanto durante o repouso (Fehlner & Gordon, 1985; Santos e cols., 1990; Mallick & Joseph, 1997;

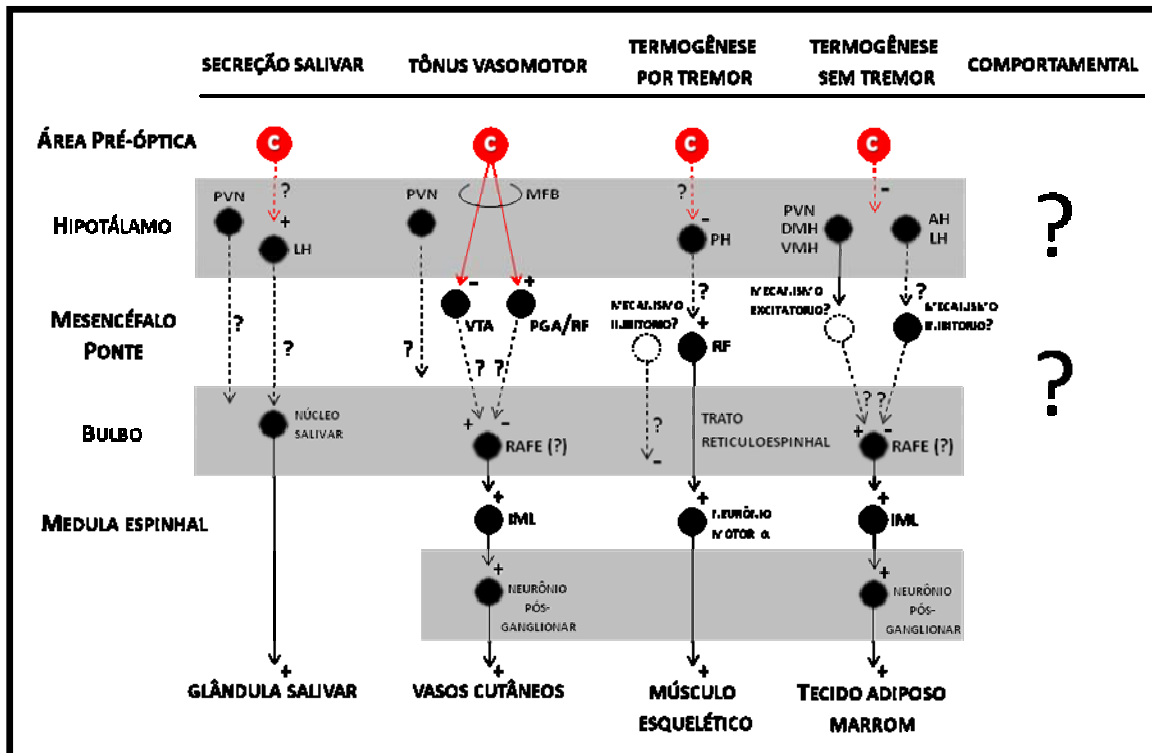
Ferreira e cols. 1999; Ishiwata e cols., 2001, 2002, 2004, 2005; Brown e cols., 2005; Osaka, 2004) como também durante a atividade física (Soares e cols., 2007; Hasegawa e cols., 2000, 2005, 2008).

Apesar dos numerosos estudos realizados para compreensão da organização estrutural da APO no controle dos mecanismos termorregulatórios, o funcionamento desta região ainda não está esclarecido. De acordo com os modelos propostos até o momento, sabe-se que a APO apresenta uma estrutura com predomínio de neurônios sensíveis ao calor em relação aos de frio (Boulant, 2006). Dessa maneira, considera-se que a resposta autonômica tanto ao frio quanto ao calor são iniciadas por alteração na atividade dos neurônios sensíveis ao calor. E assim, o aumento da atividade deste grupo de células na APO desencadeia respostas de dissipação de calor, enquanto que a diminuição da atividade promove um aumento na produção de calor (Zhang e cols., 1995). Contudo, evidências recentes sugerem que as respostas termorregulatórias autonômicas, controladas pela APO, não são unitárias. Segundo Kanouse e cols. (1998), as eferências que modulam as respostas efetoras específicas (i.e., tônus vasomotor, tremor, salivação e atividade metabólica do tecido adiposo marrom) são vias neurais completamente distintas. Sendo assim, as respostas termorregulatórias podem ser provocadas pela estimulação térmica de várias áreas do sistema nervoso central (SNC) incluindo alguns grupos neuronais do tronco encefálico (formação reticular do mesencéfalo, ponte e bulbo) e da medula espinhal, mas os neurônios

termossensíveis da APO são considerados como os mais importantes para modular as respostas termoefetoras autonômicas (Nagashima e cols., 2000; Romanovsky, 2007).

Diversas áreas do SNC têm sido identificadas como participantes do controle da atividade termoefetora por receber projeções da APO (Kanouse e cols., 1998). Em função disso, o conhecimento dos circuitos neuronais e a possível influência das áreas centrais sobre estas vias é de fundamental importância para o entendimento dos mecanismos envolvidos na termorregulação.

A figura 2 apresenta um esquema proposto por Nagashima e cols. (2000) para as vias eferentes, com origem na APO, que controlam os efetores autonômicos envolvidos na termorregulação de ratos, incluindo algumas estruturas e vias hipotéticas. Na APO, existe uma dominância de neurônios sensíveis ao calor e estes são considerados como os principais sensores envolvidos na detecção de alterações na temperatura local (Zhang e cols., 1995). A atividade destes neurônios controla, por vias distintas, os mecanismos envolvidos na produção de calor (termogênese com tremor e termogênese sem tremor) e na dissipação de calor (secreção salivar e tônus vasomotor) (Nagashima e cols., 2000). Esse controle é realizado por sinais excitatórios para aumentar a dissipação de calor e inibitórios para aumentar a produção de calor.



**FIGURA 2.** Esquema ilustrando as vias termorregulatórias eferentes da área pré-óptica do hipotálamo (POA) para cada efeitor termorregulatório. Linhas contínuas ou tracejadas indicam as conexões comprovadas e hipotéticas, respectivamente. A rede neuronal para a termorregulação comportamental é totalmente desconhecida. Abreviações: (C) neurônios sensíveis ao calor, PVN (núcleo paraventricular do hipotálamo), MFB (feixe prosencefálico medial), VTA (área tegmental ventral), PAG (substância periaquedutal cinzenta), IML (coluna intermediolateral), LH (hipotálamo lateral), RF (formação reticular), VMH (hipotálamo ventromedial), DMH (hipotálamo dorsomedial). Adaptado de Nagashima e colaboradores (2000).

O controle do fluxo sanguíneo para a cauda é realizado pelo nível de atividade das fibras vasoconstritoras pós-ganglionares do sistema nervoso simpático (O'Leary et al. 1985), o qual é contra-regulando por um mecanismo local envolvendo a liberação de fatores relaxantes derivados do endotélio vascular (Kotecha & Neild, 1986; Thorin & Atkinson, 1994). Em ratos, os núcleos da rafe parecem desempenhar um papel fundamental no controle do tônus simpático para a cauda. A estimulação química nesta região com glutamato promove um forte efeito na atividade simpática para a cauda (Rathner

& McAllen, 1999). Além disso, Tanaka e cols. (2002) demonstraram que tanto os núcleos da rafe como a área rostroventrolateral do bulbo exercem ação vasoconstritora na cauda. Contudo, segundo estes autores, somente os neurônios localizados na rafe recebem aferências da APO e estas podem agir direta ou indiretamente (via substância periaquedutal cinzenta) na região do bulbo. Estes resultados sugerem, portanto que o sinal eferente de controle do tônus vasomotor pode ser bloqueado nos núcleos da rafe.

De fato, Zhang e cols. (1997) demonstraram que os neurônios sensíveis ao calor localizados na APO respondem à estimulação elétrica ou química da APO e enviam sinais excitatórios para os neurônios presentes na porção caudal do hipotálamo lateral (LH), na substância periaquedutal cinzenta (PAG) e na formação reticular adjacente à PAG, promovendo vasodilatação da cauda. Além disso, enviam também sinais inibitórios para os neurônios que causam vasoconstrição, presentes na porção rostral da área tegmental ventral. No entanto, ainda não são conhecidos os locais no hipotálamo e no mesencéfalo que são cruciais para cada resposta efetora, bem como a localização e natureza das conexões com a APO (Nagashima e cols. 2000).

O núcleo do trato solitário (NTS), localizado no bulbo, é considerado a mais importante área no tronco cerebral envolvida na integração da atividade cardiovascular. Há alguns anos, Ricardo & Koh (1978) demonstraram a existência de conexões ascendentes partindo do NTS para os núcleos paraventricular (PVN) e dorsomedial (DMH) e



também para a APO. Esses resultados já sugeriam a existência de uma atividade funcional recíproca entre estas estruturas atuando na regulação autonômica. Mais recentemente, Zhang e cols. (2003) demonstraram, em ratos, a interação da regulação da pressão arterial sistêmica e os mecanismos de dissipação de calor. Estes autores mostraram que o aumento da pressão no baroreceptor do corpo carotídeo promoveu uma elevação na temperatura da cauda através da redução do tônus simpático, promovendo assim, redução na temperatura corporal interna. Resultados relacionando a atividade da APO com a resposta hipotérmica pós-hemorragia foram obtidos por Brown e cols. (2005). Neste caso, a microinjeção de lidocaína na APO atenuou a hipotermia causada pela hemorragia, sugerindo que a mesma é parcialmente responsável por esta resposta termorregulatória após esta alteração hemodinâmica.

Por sua vez, juntamente com o NTS, o PVN parece participar do controle metabólico em situações de hemorragia (Silveira e cols., 2003). Segundo estes autores, tanto a inibição da atividade colinérgica do PVN, com metilatropina, como também a denervação bilateral de receptores carotídeos, reduziram a resposta hiperglicêmica estimulada pela hemorragia. Além disso, o tratamento com metilatropina não afetou a recuperação da pressão arterial após a hemorragia, sugerindo que os ajustes metabólicos e os pressores apresentam vias eferentes distintas.

Estes resultados sugerem, portanto, a possibilidade de existência de uma integração de regiões hipotalâmicas com o NTS para o controle dos mecanismos cardiovasculares e termorregulatórios.

### 3.3. CONTROLE DA TEMPERATURA CORPORAL DURANTE A ATIVIDADE FÍSICA.

O processo de termorregulação envolve tanto o envio de informações sensoriais como também o controle dos mecanismos termoefetores pela região hipotalâmica (Gleeson, 1998). Informações sensoriais sobre a temperatura corporal são enviadas ao SNC, para a área pré-óptica do hipotálamo, via fibras aferentes que partem dos termocetores centrais e periféricos. Os termocetores periféricos se localizam no tecido cutâneo e são sensíveis à temperatura da pele. Já os termocetores centrais localizam-se no hipotálamo e, em algumas espécies, na medula espinhal e estes detectam a temperatura corporal interna e também a do sangue que perfunde o SNC. Em função disso, são considerados mais importantes que os termocetores periféricos para gerar uma resposta termoefetora apropriada. Além disso, informações sensoriais chamadas não-térmicas são também enviadas à área pré-óptica. Estas informações consistem em sinais neurais que partem de osmoceptores (Osaka e cols., 2001) e receptores de pressão (Zhang e cols., 1997), mostrando que alterações na osmolaridade e na

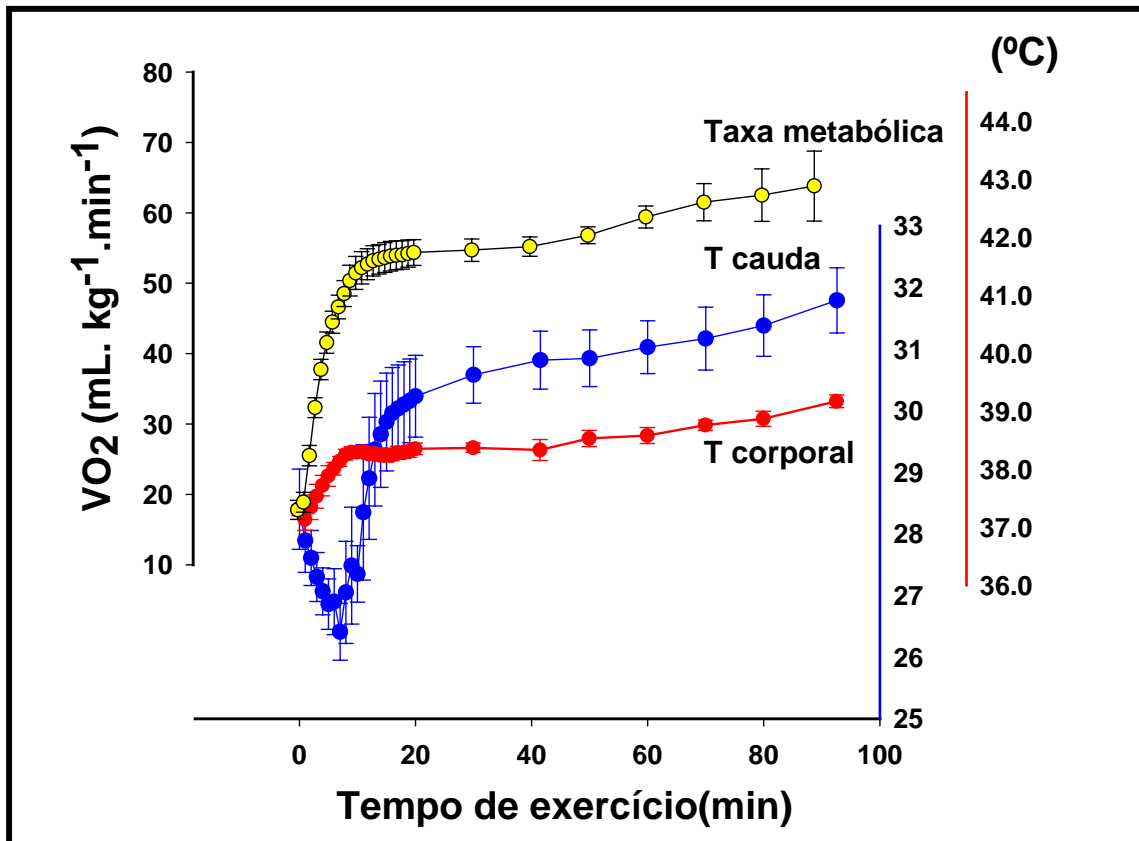
pressão arterial são capazes de afetar os mecanismos termorregulatórios.

O principal mecanismo de dissipação de calor, durante o exercício em ratos, é a vasodilatação da cauda (Dawson & Kleber, 1979; O'leary e cols., 1985), embora a ensalivação corporal seja também um mecanismo importante envolvido na perda de calor pós-exercício (Gordon, 1990; Gleeson, 1998). A cauda de um rato representa 7% da área de superfície corporal total (Gordon, 1990) e, por ser um tecido altamente vascularizado, permite uma modificação do fluxo sanguíneo durante situações de estresse térmico. A perfusão deste tecido é mínima em temperaturas ambientes em torno de 25°C (Rand e cols., 1965) e se altera mediante a necessidade termorregulatória do animal.

O exercício físico causa uma elevação na produção de calor no corpo, proporcional ao esforço, devido à baixa eficiência das reações metabólicas envolvidas no fornecimento de energia para o desenvolvimento de força muscular (Gleeson, 1998). Tal fato ocasiona um desequilíbrio entre a quantidade de calor produzida e a sua dissipação (Shellock & Rubin, 1994). Nesta situação, o controle da dissipação de calor é considerado como mais importante que o controle da produção (Webb, 1995; Gisolfi & Mora, 2000). Sendo assim, a temperatura corporal é principalmente regulada através da vasodilatação da cauda, uma vez que a atividade motora impossibilita o processo de ensalivação corporal. Dessa maneira, o controle do tônus

vasomotor é considerado o mecanismo primário de dissipação de calor, em ratos, durante a realização de uma atividade física (Wilson e cols., 1978; Shellock & Rubin, 1994).

A capacidade de realizar atividade física, nos animais homeotérmicos, pode ser prejudicada pela elevação excessiva da temperatura corporal, ocasionando uma situação denominada hipertermia (Galloway & Maughan, 1997; Walters e cols. 2000). Sobre esta condição, alguns autores sugerem que exista um valor de temperatura corporal ( $\pm 40$  °C) que, ao ser alcançado, é fator determinante para a interrupção do exercício (Gleeson, 1998; Fuller e cols., 1998; Gonzáles-Alonso e cols., 1999). Durante o exercício físico há um retardo entre o aumento rápido da taxa metabólica e a estimulação dos mecanismos termolíticos. O resultado desses dois processos determina o valor da temperatura corporal ( $T_c$ ). Na teoria do balanço térmico durante a atividade física, proposta por Webb (1995), a quantidade de calor produzida (taxa metabólica) é a variável primária, e a dissipação deste calor (vasodilatação da cauda) é a variável secundária, induzida pelo aumento da taxa metabólica. Segundo Webb (1995), haveria ainda receptores sensíveis à variação de calor, e não apenas ao valor absoluto de temperatura, para estabelecer o reajuste da variável primária durante o exercício.



**FIGURA 3.** Variações da taxa metabólica ( $\text{mL O}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ), temperatura da cauda ( $T_{\text{cauda}}$ ;  $^{\circ}\text{C}$ ) e temperatura corporal ( $T_{\text{corporal}}$ ,  $^{\circ}\text{C}$ ) em ratos durante corrida em esteira ( $18\text{m} \cdot \text{min}^{-1}$  a 5% de inclinação). Os valores dos dados são apresentados como média  $\pm$  EPM ( $n=6$ ). Ver texto para maiores detalhes. Adaptado de Lacerda e cols. (2005 e 2006).

O modelo de balanço térmico durante o exercício proposto para humanos se ajusta também para ratos. Experimentos realizados por Lacerda e cols. (2005 e 2006) demonstraram a integração destes processos no ajuste da temperatura corporal de ratos durante uma atividade física em esteira. De acordo com a figura 3, a rápida elevação da taxa metabólica (variável primária), observada até os 20 minutos, foi acompanhada de um momento de vasoconstrição (0 a 14 min.) seguida por uma vasodilatação (a partir dos 14 min.) da cauda

(variável secundária). Neste momento, a temperatura corporal (resultante) apresenta uma rápida elevação, caracterizando a fase dinâmica do controle termorregulatório. Após os 20 minutos de atividade é observado o segundo momento da atividade termorregulatória, chamada de fase estável. Nesta etapa (a partir dos 20 min.) ocorre uma vasodilatação da cauda em intensidade suficiente para dissipar grande parte do calor produzido pela elevação da atividade muscular (taxa metabólica). Sendo assim, a temperatura corporal segue uma elevação lenta e gradual até atingir o valor crítico que promove a interrupção da atividade física. Evidências experimentais recentes têm demonstrado que, além de um valor absoluto de  $T_c$ , a taxa de acúmulo de calor no corpo, durante a realização de um exercício físico, pode ser o evento responsável pela interrupção da atividade (Lacerda e cols., 2005; Soares e cols., 2004; Rodrigues e cols., 2004; Rodrigues e cols., 2003; Gonzáles-Alonso e cols., 1999). De acordo com Bruck & Olschewski (1987), o acúmulo de calor corporal reduz a motivação para a continuidade do exercício, sugerindo que nesta situação ocorre um aumento da percepção subjetiva do esforço. Esta resposta parece ser controlada pela região hipotalâmica ou pelo tronco cerebral, através de um reflexo inibitório, e parece envolver vias serotoninérgicas que se projetam para centros superiores (Bridge e cols., 2003). De fato, a análise das informações sensoriais pela região hipotalâmica para a termorregulação é mediada por neurotransmissores incluindo a serotonina (Soares e cols., 2003, 2004

e 2007), a dopamina, a acetilcolina (Wanner e cols., 2007), a noradrenalina (Gleeson, 1998) e a angiotensina II (Leite e cols. 2006; 2007). A elevação na concentração de serotonina (Newsholme e cols., 1992; Soares e cols., 2003, 2004 e 2007) como a redução na concentração de dopamina (Hasegawa e cols., 2000; Bridge e cols., 2003) em áreas do SNC têm sido apontadas como causa da interrupção da atividade física, por estarem relacionadas com o controle térmico e motor, respectivamente. Estes experimentos mostram uma forte correlação negativa entre a taxa de aquecimento e o tempo para a fadiga, indicando a existência de um sensor dinâmico neste processo. Dessa maneira, tanto o valor da taxa de aquecimento quanto a quantidade de calor acumulado parecem ser fatores limitantes da continuidade de uma atividade física, levando o animal à fadiga e esta situação pode ser causada pelo aumento ou diminuição na concentração central de monoaminas, como a serotonina e a dopamina, respectivamente.

#### 3.4. ATIVIDADE MONOAMINÉRGICA CENTRAL DURANTE A ATIVIDADE FÍSICA

Os processos que levam à interrupção de uma determinada atividade física podem ocorrer dentro de uma seqüência de eventos desde os centros motores localizados no SNC (fadiga central) até o fornecimento de energia e interações entre actina e miosina na fibra

muscular (fadiga periférica) (Enoka & Stuart, 1992). Tem sido proposto que a hipertermia acelera o desenvolvimento da fadiga central durante o exercício, resultando em uma redução da atividade muscular voluntária (Nybo & Nielsen, 2001a), aumento da atividade elétrica no córtex frontal (Nielsen e cols., 2001) e da percepção do esforço (Nybo & Nielsen, 2001b). Considerando que as alterações fisiológicas induzidas pela atividade física são controladas por áreas distintas do SNC, as alterações nas concentrações centrais de monoaminas têm sido sugeridas como um dos principais mecanismos causadores da fadiga central (Chaouloff, 1989; Newsholme & Blomstrand, 1995). Portanto, a possibilidade do envolvimento de alguns neurotransmissores, como a serotonina, dopamina, noradrenalina e acetilcolina no SNC deve ser considerada como os mediadores envolvidos no mecanismo de fadiga central (Bailey e cols., 1993; Davis, 1995; Davis & Bailey, 1997).

A concentração central de serotonina (5-hidroxitriptamina; 5-HT) está associada com diversos processos relacionados à percepção do esforço e fadiga muscular, tais como motivação, letargia e sonolência (Davis & Bailey, 1997). Além disso, evidências experimentais têm demonstrado que a injeção de 5-HT na APO do hipotálamo anterior promove hipertermia (Myers & Yaksh, 1969). Lin e cols. (1998) demonstraram que a perfusão da região hipotalâmica com 5-HT interfere na atividade termorregulatória e a resposta observada depende do tipo de receptor estimulado. A fadiga devido a hipertermia pode estar relacionada a estes efeitos da 5-HT sobre a termorregulação.



A hipótese de fadiga central sugere que um aumento na concentração desta amina em determinadas regiões cerebrais reduz a motivação e assim prejudica o desempenho físico (Newsholme e cols., 1992). Há evidências experimentais que apontam nessa direção. Estudos realizados com ratos durante corrida em esteira mostram que a utilização de drogas que aumentam a atividade serotoninérgica no SNC causa redução do tempo total de exercício (Newsholme e cols., 1992; Soares e cols., 2002, 2004 e 2007). O triptofano (TRP) é um aminoácido precursor da 5-HT e o aumento da sua disponibilidade no SNC promove uma maior atividade serotoninérgica (Chaouloff, 1989; Newsholme & Blomstrand, 1995). De acordo com resultados obtidos por Soares e cols. (2004), a microinjeção de TRP intracerebroventricular (icv), em ratos, promove aumento no calor acumulado e no ritmo de acúmulo de calor e reduz o tempo de exercício. Além disso, seguindo o mesmo protocolo experimental, Soares e cols. (2007) demonstraram que associado ao efeito termorregulatório promovido pelo TRP, ocorre também um aumento na concentração de 5-HT na APO e no hipocampo. Estes resultados sugerem que a diminuição do tempo de exercício devido ao acúmulo de calor corporal é mediada pelo aumento da atividade serotoninérgica na APO.

Apesar do mecanismo de fadiga central estar principalmente relacionado à concentração de 5-HT em determinadas áreas do SNC, a participação da dopamina (DA) e da noradrenalina (NA) também não pode ser excluída. Experimentos realizados com ratos, em repouso e

expostos ao calor, demonstraram que a resposta de dissipação de calor através da vasodilatação da cauda foi parcialmente suprimida pela injeção prévia de haloperidol (antagonista receptores D2) ou de propanolol (antagonista de receptores  $\beta$ ) nas regiões ventral e medial da APO (Cox e cols., 1980). Hasegawa e cols. (2005) demonstraram que a injeção de bupropiona (inibidor inespecífico da recaptação de catecolaminas) na APO, de ratos em repouso, reduziu a atividade dos mecanismos de dissipação de calor, promovendo um aumento da temperatura corporal interna e cerebral. Estes resultados foram associados à elevação das concentrações de DA e NA na APO. A microinjeção de bupropiona promove um aumento nas concentrações de DA e NA, apresentando uma seletividade 2,5 vezes maior para a DA e não interfere na recaptação de 5-HT (Richelson & Pfenning; 1984). Estudos com microdiálise em ratos mostraram que a administração de bupropiona afetou a liberação hipocampal de DA e NA (Piacentini e cols., 2003). Recentemente, Hasegawa e cols. (2008) também encontraram resultados semelhantes em ratos durante corrida em esteira. De acordo com estes autores, a elevação das concentrações de DA e NA na APO promoveu um aumento do desempenho físico, apesar do aumento também observado na Tc interna e cerebral. Estes resultados sugerem a participação de receptores dopaminérgicos e noradrenérgicos, na região hipotalâmica, envolvidos no controle da atividade termorregulatória.

Além de participar do mecanismo termorregulatório durante o repouso, a dopamina e a noradrenalina, estão também relacionadas com o controle da motivação e da atividade motora (Clark & Lipton, 1986, 1985) durante a atividade física. A participação da DA tem sido demonstrada pelo aumento do seu metabolismo no hipocampo, no hipotálamo e no mesencéfalo de ratos durante corrida em esteira (Heyes e cols., 1988). A manutenção da síntese e do metabolismo desta monoamina durante o exercício parece também retardar o momento de fadiga (Bailey e cols., 1993). Estudos realizados com humanos, tratados com bupropiona, demonstraram uma melhoria do desempenho físico, em ambientes quentes, mediante o aumento da disponibilidade de dopamina e noradrenalina no corpo (Watson e cols., 2005). Dessa maneira, mesmo que o valor crítico de temperatura corporal seja atingido, a manutenção dos níveis de DA na APO mantém a motivação para a realização do exercício.

Em função destes resultados, sugere-se que o desenvolvimento da fadiga central parece ser contra-regulado pela manutenção dos níveis elevados de dopamina e noradrenalina na área pré-óptica. Além disso, a DA e a 5-HT parecem ser as principais monoaminas envolvidas no controle da motivação e do controle motor durante a atividade física e a proporção  $[5\text{-HT}]/[DA]$  parece ser importante para o desenvolvimento da fadiga central.

### 3.5. PARTICIPAÇÃO DO SISTEMA COLINÉRGICO CENTRAL DURANTE A ATIVIDADE FÍSICA

A realização de uma atividade física envolve, entre outros processos, a necessidade de uma mobilização adequada de substratos energéticos, de uma adaptação nos mecanismos de dissipação de calor e de um aporte sanguíneo ideal para os tecidos em atividade. A participação do sistema colinérgico central tem sido demonstrada em todos estes processos que são importantes para a continuidade de uma atividade física.

A estimulação colinérgica intracerebroventricular (icv) com agonistas colinérgicos (Iguchi e cols., 1985, 1986; Migliorini e cols., 1989) ou anticolinesterásicos (Iguchi e cols., 1988, 1989, 1991) em ratos em repouso promove aumento da concentração plasmática de glicose. Os principais núcleos hipotalâmicos envolvidos neste processo parecem ser o VMH (Iguchi e cols., 1990; Brito e cols., 1993) e o PVN (Takahashi e cols., 1997). No entanto, existem poucas evidências sobre a participação do sistema colinérgico central durante o exercício. Dados obtidos por Lima e cols. (1998) mostraram que a aplicação icv de atropina no ventrículo cerebral lateral promoveu uma redução na capacidade máxima de exercício, sendo esta redução mais acentuada nos animais previamente adrenalectomizados bilateralmente. Estes dados constituem a primeira evidência da participação de neurônios colinérgicos hipotalâmicos no controle da capacidade máxima de

exercício em ratos. No entanto, o curto período de exercício dos animais tratados icv com atropina dificultou a avaliação da participação do sistema colinérgico central nos ajustes metabólicos durante a atividade física.

O controle da temperatura corporal utiliza vias colinérgicas na integração e no processamento central das informações térmicas, como também no controle das respostas efetoras (Gordon, 1990; 1996). Alguns trabalhos têm demonstrado que a administração intracerebroventricular de agonista colinérgico, metacolina (Lin e cols., 1979), ou de anticolinesterásico, fisostigmina (Lin e cols., 1980), em ratos não-anestesiados e em repouso, promove hipotermia, a qual é inibida pelo tratamento prévio com atropina. Recentemente Wanner e cols. (2007) demonstraram que uma das áreas envolvidas neste controle é o núcleo ventromedial do hipotálamo (VMH). O bloqueio dos receptores colinérgicos no VMH com metil-atropina, um antagonista muscarínico, impediu a dissipação de calor através da vasodilatação da cauda. Sendo assim, o VMH pode apresentar sinapses colinérgicas muscarínicas envolvidas na ativação dos mecanismos termolíticos (vasodilatação da cauda) durante o exercício. Estes resultados sugerem a existência de sinapses colinérgicas muscarínicas na região hipotalâmica ventromedial que participam na regulação da temperatura corporal em repouso e em atividade física. Entretanto, a participação de outras áreas, tais como a APO, hipocampo e o córtex pré-frontal, não pode ser excluída.

A presença de neurônios colinérgicos tem sido observada em diversas regiões do cérebro envolvidas na regulação da pressão arterial em ratos durante o repouso (Takahashi e cols., 2001). De acordo com os experimentos realizados por Li e cols. (1997), a microinjeção icv de neostigmina, um anticolinesterásico, promove uma elevação na pressão arterial média e este efeito foi relacionado com o aumento da imunoreatividade para receptores colinérgicos na APO, nos núcleos posterior, paraventricular e supra-óptico e também em áreas do tronco cerebral. Além disso, o tratamento prévio com metilatropina reduziu a resposta de imunorreatividade observada. Estes resultados indicam que a resposta pressora induzida pela estimulação colinérgica é mediada pela ativação dos receptores muscarínicos em regiões específicas do hipotálamo e tronco cerebral envolvidas na regulação da atividade cardiovascular.

Durante a realização de uma atividade física, a necessidade de garantir uma adequada perfusão dos músculos em exercício pode se contrapor à necessidade termorregulatória, uma vez que a vasodilatação da cauda é o principal mecanismo termolítico acionado nesta situação. Considerando que o sistema colinérgico central está envolvido tanto no controle dos processos de termorregulação como também no cardiovascular, Pires e cols. (2007) avaliaram o efeito da administração central de fisostigmina, em ratos durante o exercício físico. Segundo estes autores, o aumento da atividade colinérgica central promoveu elevação da pressão arterial média seguido de um

aumento da temperatura da cauda. No entanto, a frequência cardíaca apresentou uma redução e não houve alteração do tempo total de exercício. Diante disso, foi sugerido que a vasodilatação observada na cauda ocorreu devido ao aumento da pressão arterial sistólica. Além disso, apesar da ativação colinérgica não interferir com o tempo de exercício, foi observada uma correlação inversa entre o tempo para fadiga e o aumento da pressão arterial diastólica (PAD). Considerando-se que a PAD é um importante sinalizador da elevação da resistência periférica e do esforço cardíaco, estes resultados sugerem que o sistema colinérgico central parece modular as respostas termorregulatórias e cardiovasculares durante a realização de uma atividade física.

### 3.6. INTERAÇÕES CENTRAIS ENTRE ACETILCOLINA E AS MONOAMINAS

A atividade de um determinado sistema neural pode ser quantificada pela relação existente entre a concentração de um determinado metabólito [x] e da sua substância formadora [y], isto é,  $[x]/[y]$ . Sendo assim, a atividade dos sistemas colinérgico, serotoninérgico, dopaminérgico e noradrenérgico podem ser registradas pela variação na concentração destes neurotransmissores e seus respectivos metabólitos, colina (Ch), ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA), ácido 3,4-hidroxifenilacético (DOPAC) e 3,4-dihidroxifeniletleneglicol (DHPG).

A ativação de receptores muscarínicos centrais parece afetar o metabolismo de NA, DA e 5-HT no cérebro de ratos. De acordo com um estudo realizado por Gotoh & Smythe (1992), a microinjeção icv de neostigmina causou um aumento nas relações  $[DOPAC]/[DA]$  e  $[DHPG]/[NA]$  e uma redução em  $[5-HIAA]/[5-HT]$  na região hipotalâmica. Além disso, associado a essas alterações foi registrado um aumento da concentração plasmática de glicose e estas respostas foram inibidas mediante o tratamento prévio com atropina. Takahashi e cols. (1993) também observaram uma interação entre o sistema colinérgico e o monoaminérgico na região hipotalâmica. De acordo com os resultados obtidos por estes pesquisadores, a injeção icv de neostigmina promoveu hiperglicemia associada ao aumento da atividade colinérgica, dopaminérgica e noradrenérgica na porção ventromedial do hipotálamo. Dessa maneira, estes resultados sugerem que o aumento da atividade colinérgica central pode modular a atividade monoaminérgica da região hipotalâmica, e este efeito é mediado por receptores muscarínicos.

Conforme já mencionado, o processo de termorregulação central parece depender não só de sinapses colinérgicas, mas parece envolver também a participação dos sistemas dopaminérgicos (Hasegawa e cols., 2000), serotoninérgicos e noradrenérgicos (Takahashi e cols., 1993; Gotoh & Smythe, 1992; Myers & Yaksh, 1969). Dessa maneira, é possível que o sistema colinérgico central possa interagir com neurônios monoaminérgicos no SNC para o controle dos mecanismos



termorregulatórios, cardiovasculares e metabólicos. No entanto, conforme sugerido por Takahashi e cols. (1993), estudos elaborados com agonistas ou antagonistas de neurotransmissores específicos, ou ainda com seus inibidores metabólicos, nem sempre interferem apenas em neurônios específicos no sistema nervoso central. Sendo assim, em procedimentos envolvendo a estimulação química, é de grande importância o registro das concentrações dos neurotransmissores, como também dos seus metabólitos, para a compreensão do funcionamento dos circuitos neuronais centrais envolvidos no controle dos eventos fisiológicos.

#### **4. HIPÓTESE**

De acordo com as evidências experimentais apresentadas, a estimulação colinérgica da área pré-óptica com anticolinesterásico promove uma redução na temperatura corporal de ratos durante o repouso. Além disso, o aumento da concentração central de acetilcolina promove uma redução da concentração de serotonina na região hipotalâmica. Considerando que a elevação da temperatura corporal está relacionada ao aumento dos níveis de serotonina na área pré-óptica e que a hipertermia está envolvida com a ocorrência de fadiga durante a atividade física, é razoável propor que a estimulação

colinérgica central aumente o tempo de exercício físico. Além disso, este efeito ergogênico e termorregulatório promovido pela estimulação colinérgica central possa estar relacionado com a redução da concentração de serotonina na área pré-óptica.

## 5. OBJETIVOS

### 5.1. OBJETIVO GERAL

Estudar os efeitos da estimulação colinérgica central no metabolismo corporal e nas concentrações centrais de serotonina em animais intactos não-treinados submetidos ao exercício físico de intensidade moderada.

### 5.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Estudar os efeitos da injeção icv de fisostigmina em ratos não-treinados intactos (INT) ou adrenodemedulados (ADM) em repouso ou submetidos ao exercício submáximo sobre:
  - A. O tempo de exercício até a fadiga (min.);
  - B. O consumo de oxigênio ( $\text{mL O}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ );
  - C. Trabalho realizado (kgm);

- D. As respostas termorregulatórias: temperatura colônica ( $^{\circ}\text{C}$ ), taxa de aquecimento corporal ( $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ ) e calor acumulado (cal).
2. Estudar os efeitos da injeção icv de fisostigmina em ratos intactos não-treinados submetidos ao exercício submáximo sobre as concentrações de serotonina (5-HT) e ácido 5-hidroxiindoleacético (5-HIAA) nas seguintes áreas cerebrais: hipotálamo, área pré-óptica do hipotálamo, córtex pré-frontal e hipocampo.

## 6. MATERIAIS E MÉTODOS

Todos os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CETEA/UFMG) (protocolo 018/05) da Universidade Federal de Minas Gerais.

Os experimentos foram realizados entre 10 e 14 horas e a temperatura ambiente foi mantida entre os valores de 23-26  $^{\circ}\text{C}$ . Foram utilizados ratos Wistar adultos, com peso corporal de 250-300g, provenientes do Centro de Bioterismo (CEBIO) do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais. Após as cirurgias, os animais foram mantidos em gaiolas individuais, com fotoperíodo de 14h luz/10h escuro, tendo livre acesso a ração para ratos (Nuvilab) e água.

## 6.1. PROCEDIMENTOS CIRÚRGICOS

Os animais foram anestesiados com tribromoetanol 2,5% (1 mL/100g de peso corporal), via intraperitoneal (ip). Para a canulação intracerebroventricular (icv) foram seguidas 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).

Nos animais utilizados no experimento 3, utilizando-se o mesmo anestésico acima citado, foi realizada uma incisão na região ventral anterior para a introdução de um termistor na cavidade peritoneal para o registro da temperatura abdominal.

Ao término da cirurgia, os animais receberam uma dose única de 20.000 U de penicilina procaína (Pentabiótico veterinário, Fontoura – Wyeth), via intramuscular e Banamine injetável (1,1 mg/kg de peso corporal – 0,02 mL em uma das patas traseiras), via subcutânea.

## 6.2 ADRENODEMEDULAÇÃO BILATERAL

Os animais do experimento 2, após a anestesia com éter, foram submetidos a uma incisão paralombar. As adrenais foram expostas e, através de uma pequena incisão removeu-se a porção medular exercendo-se uma pequena compressão da referida glândula (Zarrow,

1964). Após um período de 14 dias a partir da cirurgia, os animais adrenalectomizados foram submetidos à canulação central (icv) e, após 7 dias, foram realizados os experimentos.

### 6.3. PROTOCOLO DA ATIVIDADE FÍSICA

Os animais foram adaptados à esteira rolante (Simplex II – Columbus Instruments) através de uma corrida diária a uma velocidade de 15 m/min. a 0% de inclinação, durante 5 minutos, por 4 dias consecutivos. Durante os experimentos, os animais correram na esteira rolante a uma velocidade de 20 m/min. a 5% de inclinação. A intensidade desta atividade foi equivalente a 70%  $VO_2$  máx (Brooks & White, 1978; Sonne & Galbo, 1980, Lima e cols., 1998). A fadiga foi determinada pelo momento no qual os animais não conseguiam mais acompanhar o ritmo da esteira, permanecendo sobre a grade de estímulo elétrico por mais de 15 segundos (Bailey e cols, 1993).

### 6.4. REGISTRO DA TEMPERATURA CORPORAL

Nos experimentos 1 e 2, a temperatura colônica foi registrada utilizando-se um termômetro YSI (Precision 4000 A). A sonda com o sensor foi introduzida por 4 cm através do esfíncter anal e afixada na cauda por meio de uma fita adesiva com 0,5 cm de largura. A

adaptação dos animais a este procedimento foi realizada simultaneamente com a da corrida na esteira rolante.

No experimento 3, os registros da temperatura corporal foram realizados por telemetria (modelo TR3000 XM-FM, Vital View Mini-Mitter, Sun River, OR, USA) através de sensores implantados na cavidade abdominal.

#### 6.5. REGISTRO DO CONSUMO DE OXIGÊNIO

Para registro do consumo de oxigênio foi utilizado o equipamento Oxymax v5.00 (Columbus Instruments), que consiste em um sistema de calorimetria indireta que utiliza a espirometria por circuito aberto para calcular o gasto energético do organismo. Os parâmetros foram registrados a cada minuto durante os experimentos.

Os experimentos em repouso foram realizados em uma caixa metabólica com o fluxo de ar mantido em 1,3 L/min com captação de 0,5 L/min. Os experimentos em exercício foram realizados na esteira rolante com o fluxo de ar de 3 L/min com captação de 1 L/min.

#### 6.6. DOSAGEM DAS MONOAMINAS

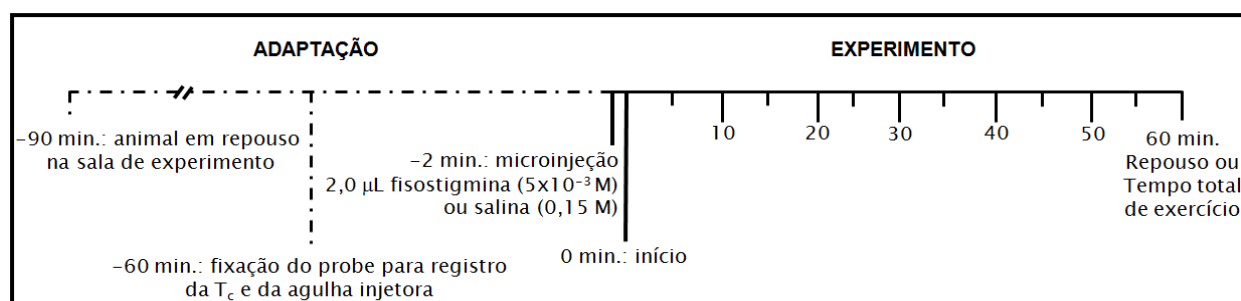
Após o experimento os animais foram decaptados e os tecidos cerebrais foram retirados e armazenados a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  até o momento da dosagem das concentrações de 5-HT e 5-HIAA. Esta dosagem foi realizada pela técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com detecção eletroquímica (Smimadzu, Kyoto, Japan). O potencial utilizado para detecção foi de 850 mV, através de um eletrodo de referência Ag/AgCl mergulhado em solução de KCl. A fase móvel foi preparada com 31,4 g de ácido cítrico (Merck), 584 mg de NaCl (Merck), 140 mg de ácido octano sulfônico (Sigma, St Louis, MO, USA), 800 mL de água mili-Q, 48 mL de acetonitrila (Merck) e 28 mL de tetra-hidrofurano (Merck) (Dominguez e cols., 2003). A fase móvel foi filtrada a vácuo e colocada para ser bombeada pelo sistema no fluxo de  $1,0\text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ .

No dia da dosagem, os tecidos eram previamente pesados e homogeneizados com ácido perclórico 0,2 M e centrifugados a 15000 rpm por 20 min a  $6\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Após este procedimento, eram injetados 20  $\mu\text{L}$  do sobrenadante no cromatógrafo, e a quantificação das substâncias foi feita pela comparação da área do pico com uma curva padrão, utilizando-se o software CLASSVP em linha com o cromatógrafo. A relação [5-HIAA]/[5-HT] foi utilizada para calcular a atividade do sistema serotoninérgico (Dominguez e cols., 2003).

## 6.7. PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

A realização dos experimentos foi dividida em 03 modelos experimentais:

- Experimento 1: animais intactos em repouso (60 min.) ou em exercício até o momento da fadiga.
- Experimento 2: animais adrenodemedulados em repouso ou em exercício até o momento da fadiga.
- Experimento 3: animais intactos em exercício até o momento da fadiga.



**FIGURA 4:** Apresentação esquemática dos experimentos realizados.

Para todos os experimentos realizados, foi seguida a ordem apresentada na figura 4. O animal era levado até a sala do experimento 90 min. antes de iniciar o experimento, onde permanecia para adaptação ao local. Após 30 min. era realizada a fixação do probe retal (experimento 1 e 2) e introduzida a agulha injetora.



Imediatamente após este procedimento, o animal era colocado na caixa da esteira e permanece por mais 60 minutos. A sonda do termômetro retal era exteriorizada através de uma abertura longitudinal presente na parte superior da referida caixa. Os registros do consumo de oxigênio e da temperatura colônica foram realizados a partir do momento em que o animal foi colocado na esteira e após 30 minutos de estabilidade destes parâmetros, foram registrados os valores basais. Os resultados obtidos após este momento foram referidos como os valores no tempo 0 (zero) e então era realizada a microinjeção. Os animais receberam aleatoriamente uma microinjeção de 2  $\mu$ L de salina (0,15 M) ou de fisostigmina ( $5 \times 10^{-3}$  M) (Eserine, Sigma – St. Louis, MO). As microinjeções no ventrículo cerebral lateral foram aplicadas lentamente (1 minuto) para evitar elevação súbita da pressão hidrostática local e a cânula injetora será mantida por mais 1 minuto para a difusão da droga ou da salina. Após o término do tempo para difusão do volume injetado era iniciado o experimento e registrados os valores de consumo de oxigênio e da temperatura a cada minuto da atividade até o final do tempo de repouso ou de corrida.

#### 6.7.1. Experimentos 1 e 2

Os animais intactos (INT) ou adrenodemedulados (ADM) foram separados em 8 grupos em função do registro do consumo de oxigênio

e da temperatura colônica terem sido realizados separadamente (figura 5).

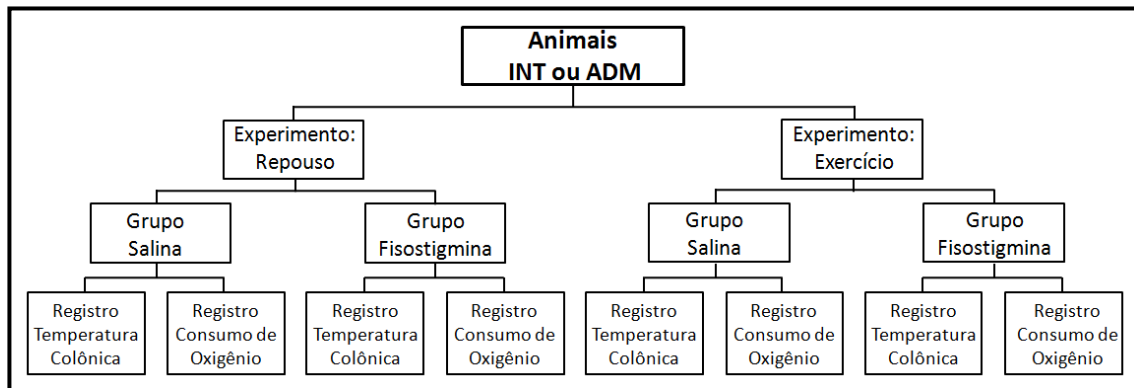


FIGURA 5: Apresentação esquemática da divisão dos grupos experimentais.

A carga de trabalho foi calculada, nos animais em exercício, de acordo com a seguinte fórmula:  $W = p \cdot t \cdot v \cdot \text{seno } \theta$ , onde  $W$  é a carga de trabalho,  $p$  é o peso dos animais (kg),  $t$  é o tempo de corrida (min.),  $v$  é a velocidade da esteira ( $\text{m} \cdot \text{min}^{-1}$ ) e  $\text{seno } \theta$  é o ângulo de inclinação da esteira (Brooks et al., 1978; Lima et al., 2001).

A taxa de aquecimento corporal foi calculada, nos animais em exercício, de acordo com a seguinte fórmula:  $TAC = \Delta T_c / t$ , onde  $TAC$  é a taxa de aquecimento corporal,  $\Delta T_c$  é a variação na temperatura corporal (temperatura corporal no ponto da fadiga - temperatura corporal inicial medida antes do exercício) e  $t$  é o tempo de corrida (min.).

O calor acumulado foi calculado, nos animais em exercício, de acordo com a seguinte fórmula:  $CA = \Delta T_c \cdot m \cdot c$ , onde  $CA$  é o calor acumulado,  $\Delta T_c$  é a variação na temperatura corporal,  $m$  é o peso dos

animais (gramas) e  $c$  é o calor específico dos tecidos corporais ( $0.826 \text{ cal} \cdot \text{g}^{-1} \cdot ^\circ\text{C}^{-1}$ ) (Gordon, 1990).

### 6.7.2. Experimento 3

Foi seguido o mesmo procedimento experimental adotado nos modelos anteriores (figura 4), contudo, imediatamente após o término do exercício físico, o animal foi decapitado e as seguintes áreas dos cérebros dos animais foram dissecadas: córtex, hipotálamo, hipocampo e área pré-óptica do hipotálamo (Dominguez e cols., 2003; Soares e cols., 2003).

Além disso, neste experimento foi realizado o registro da temperatura abdominal através de um sistema de telemetria.

## 6.8. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para análise entre os grupos experimentais, foi utilizada a análise de variância seguida do teste de Newman-Keuls. A análise dos dados obtidos foi feita pelo teste  $t$  de Student, pareado ou não pareado, de acordo com a situação experimental. Para análise das correlações, foi usado o teste de correlação de Pearson. O nível de significância utilizado foi de  $p < 0,05$ .

## 7. RESULTADOS ALCANÇADOS

### 7.1. ESTIMULAÇÃO COLINÉRGICA CENTRAL FACILITA OS MECANISMOS DE DISSIPAÇÃO DE CALOR EM RATOS DURANTE O EXERCÍCIO [Journal of Applied Physiology (97): 333–338; 2004]

O objetivo deste estudo foi avaliar a participação da transmissão colinérgica central na regulação da taxa metabólica, temperatura corporal interna ( $T_c$ ) e no acúmulo de calor em ratos não-treinados, submetidos ao exercício em esteira rolante ( $20 \text{ m} \cdot \text{min}^{-1}$  com 5% de inclinação) até a fadiga. Os animais foram separados em oito grupos

experimentais e a temperatura interna ou a taxa metabólica foram registradas durante o exercício ou o repouso após a injeção de 2 $\mu$ L de fisostigmina ( $5 \times 10^{-3}$  M; PHY) ou de salina (0.15 M de NaCl; SAL) no ventrículo cerebral lateral. A taxa metabólica foi determinada por um sistema de calorimetria indireta e a temperatura colônica foi registrada como um índice da  $T_c$ . Em repouso, a PHY induziu somente um aumento pequeno na taxa metabólica comparado com a injeção de SAL, sem ter nenhum efeito na  $T_c$ . Durante o exercício, os animais tratados com PHY mostraram um inferior ritmo de aquecimento corporal ( $0,022 \pm 0,003$  °C. min<sup>-1</sup>, PHY vs  $0,033 \pm 0,003$  °C. min<sup>-1</sup>, SAL;  $p < 0,02$ ), calor acumulado ( $285 \pm 37$  cal, PHY vs  $436 \pm 34$  cal, SAL;  $p < 0,02$ ) e uma  $T_c$  menor no ponto de fadiga que o grupo tratado com SAL ( $38,5 \pm 0,1$  °C, PHY vs  $39,0 \pm 0,1$  °C, SAL;  $p < 0,05$ ). Contudo, apesar do menor ritmo de aquecimento corporal, da redução no calor acumulado e da menor  $T_c$  na fadiga, os animais tratados com PHY mostraram um tempo de corrida similar ao grupo tratado com SAL. Podemos concluir que a ativação do sistema colinérgico central durante o exercício aumenta a dissipação de calor e atenua o aumento na  $T_c$  induzido pelo exercício sem afetar o desempenho físico.

Para visualizar o artigo, clique no link abaixo:

[Tese Doutorado Artigo 1.pdf](#)

## 7.2. EVIDÊNCIA QUE O ACÚMULO DE CALOR INDUZIDO PELO EXERCÍCIO É DEPENDENTE DA SECREÇÃO DA MEDULA ADRENAL

[Physiology & Behavior (94): 463–467, 2008]

Para investigar a influência da secreção da medula adrenal na termorregulação durante o exercício, Phy (Eserina,  $5 \times 10^{-3}$  M) foi injetada no ventrículo cerebral lateral (icv) de ratos não-treinados intactos (INT) ou adrenodemedulados bilateralmente (ADM). Temperatura corporal ( $T_b$ ) e a taxa metabólica foram registradas nos ratos durante o exercício

em esteira rolante ( $20 \text{ m} \cdot \text{min}^{-1}$  com 5% de inclinação) até a fadiga ou durante o repouso, após a injeção da droga. Nos animais em repouso, a Phy aumentou o consumo de oxigênio tanto no grupo INT como também no ADM, sem nenhum efeito na temperatura interna. Durante a fase dinâmica do exercício (primeiros 20 min.), a adrenodemedulação atenuou o aumento na temperatura interna induzido pelo exercício ( $0,86 \pm 0,12 \text{ }^\circ\text{C}$  ADM Sal vs  $1,48 \pm 0,21 \text{ }^\circ\text{C}$  INT Sal), reduzindo então os níveis de calor acumulado (HS). A injeção icv de Phy nos ratos ADM significativamente reduziu o aumento na  $T_b$  ( $0,012 \pm 0,10 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$  Phy vs  $0,042 \pm 0,006 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$  Sal;  $p < 0,02$ ) e no HS ( $65,8 \pm 56,1 \text{ cal}$  Phy vs  $207,7 \pm 32,7 \text{ cal}$  Sal;  $p < 0,04$ ) comparado com ratos ADM sal. Concluindo, em ratos, o aumento no calor acumulado induzido pelo exercício foi atenuado pela adrenodemedulação. Além disso, a ativação dos mecanismos de dissipação de calor, pelo sistema colinérgico central durante o exercício, ocorre independentemente da supressão da secreção da medula adrenal e pode ser melhorado pela adrenodemedulação prévia. Nossos dados indicam a existência de uma dualidade no controle dos mecanismos de dissipação de calor durante a fase dinâmica do exercício: um envolvendo a ativação do sistema simpato-adrenal que impede a perda de calor e outro que contra-regula o aumento da atividade simpato-adrenal através do sistema colinérgico hipotalâmico para promover a perda de calor.

Para visualizar o artigo, clique no link abaixo:

[Tese Doutorado Artigo 2.pdf](#)

7.3. A DISSIPACÃO DE CALOR PROMOVIDA PELA ESTIMULAÇÃO DO SISTEMA COLINÉRGICO CENTRAL DURANTE A ATIVIDADE FÍSICA ESTÁ RELACIONADA À CONCENTRAÇÃO DE SEROTONINA NA ÁREA PRÉ-ÓPTICA

[artigo submetido à revista Neuroscience Letters]

Para investigar a influência do sistema colinérgico central na concentração de serotonina na região hipotalâmica e no processo de



termorregulação durante o exercício, foi injetado 2  $\mu\text{L}$  de fisiostigmina (PHY) (Eserine,  $5 \times 10^{-3}$  M) ou de salina (SAL) (0,15 M) no ventrículo cerebral lateral de ratos não-treinados em repouso ou submetidos a atividade física ( $20 \text{ m} \cdot \text{min}^{-1}$  com 5% de inclinação). Foi analisado o tempo de exercício para a fadiga (min) e o calor acumulado (CA). A temperatura interna foi registrada por telemetria. No momento de fadiga, o tecido cerebral foi cuidadosamente removido e a área pré-óptica (APO), o hipotálamo (HP), o córtex pré-frontal (CTx) e o hipocampo (HC) foram rapidamente dissecados e imediatamente congelados em gelo-seco. As concentrações de serotonina (5-HT) e ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) foram medidas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Durante o exercício, os ratos em exercício tratados com PHY apresentaram uma menor quantidade de calor acumulado que o grupo tratado com salina. O grupo PHY em exercício apresentou um menor conteúdo de 5-HT na APO e o hipocampo e o hipotálamo apresentaram uma maior atividade do sistema serotoninérgica que os grupos tratados com SAL em repouso e em atividade física. Foi observada uma correlação positiva entre CA e a concentração de 5-HT na APO. O mesmo resultado foi observado para a concentração de 5-HIAA nesta área. Contudo, não houve correlação entre 5-HT ou 5-HIAA e CA no hipocampo. Nossos resultados oferecem evidências que a estimulação colinérgica reduz o conteúdo de 5-HT na APO e o calor acumulado durante o exercício físico. Além disso, os níveis de 5-HIAA e a atividade serotoninérgica no hipocampo parece não influenciar o processo de termorregulação. Concluindo, nossos dados indicam que a estimulação do sistema colinérgico central durante o exercício físico promove a dissipação de calor através da redução do conteúdo de serotonina na área pré-óptica.

RODRIGUES, A. G., D. D. SOARES, U. MARUBAYASHI AND C. C. COIMBRA.  
Central cholinergic system facilitates heat dissipation in running rats

mediated by serotonin concentration in preoptic area – To investigate the influence of central cholinergic system on hypothalamic serotonin concentration and on thermoregulation during exercise, 2  $\mu$ L of physostigmine (PHY) (Eserine,  $5 \times 10^{-3}$  M) or saline (SAL) (0.15 M) was injected into the lateral cerebral ventricle of exercising (20 m.min<sup>-1</sup>, 5% inclination) and resting untrained rats. Exercise time to fatigue (min) and heat storage (HS) were analysed. Core temperature was measured by telemetry. At fatigue, brains were quickly removed and preoptic area (POA), hypothalamus (HP), frontal cortex (FC), hippocampus (HC) were rapidly dissected and frozen immediately in dry ice. Serotonin (5-HT) and 5-hydroxyindoleacetic acid (5-HIAA) were measured by HPLC. During exercise, the PHY-treated animals showed lower heat storage than the SAL-treated group. PHY-exercised rats showed the lowest content of 5-HT in the POA and the highest serotonergic activity in the hippocampus and hypothalamus compared to the rested and SAL-exercised rats. A positive correlation between HS and a 5-HT in POA were observed. The same result was also found to 5-HIAA in this area. However, there was no correlation between 5-HT or 5-HIAA content and HS in hippocampus. Our results bring further evidences that cholinergic stimulation reduces 5-HT content in POA and HS during exercise. Furthermore, the 5-HIAA level and serotonergic activity in hippocampus seems not influence on thermoregulation process. In conclusion, our data indicated that stimulation of central cholinergic system promotes heat dissipation by decrease of serotonin content in preoptic area during exercise.

Key words: physostigmine; serotonin; exercise; heat storage.

## INTRODUCTION

Internal body temperature and increased heat storage have been proposed as limiting factors to physical performance in both human (Rodrigues et al. 2003, González-Alonso et al. 1999, Galloway et al. 1997) and animal (Soares et al. 2004, Leite et al. 2006) studies is considered to be a limiting factor. However, the mechanisms responsible for exercise fatigue related to increasing body temperature are still not well understood.

The preoptic area/anterior hypothalamus (PO/AH) is one of the major brain region involved in thermoregulation that integrates thermoafferent signals from the skin and other parts of the body and exerts control over the thermoefferent mechanisms (Leite et al. 2006, Lacerda et al. 2005, Ishiwata et al. 2002, Nagashima et al. 2000, Coimbra and Migliorini 1988, Gordon C. 1993). The neurotransmitter that mediates thermoafferent signals to the PO/AH is unknown, even though there is evidence implicating a role for a variety of neurotransmitters, such as angiotensin, serotonin, dopamine and acetylcholine (Leite et al. 2006, Hasegawa et al. 2000, Kendrick et al. 1989, Zeisberger E. 1987). Soares et al. (2004) showed that increased hypothalamic TRP availability during exercise precipitates fatigue that was related to a heat imbalance due to increased heat production and decreased dissipation. Fatigue during

prolonged exercise may be influenced by the activity of the brain serotonergic system (Soares et al. 2007; Tanaka et al. 2003, Meeusen et al. 1996; Chaouloff et al. 1997). Recently Soares et al. (2007) demonstrated evidences that increased 5-HT content in POA is involved with an increase in heat production and suggested that tryptophan-induced central fatigue in exercising rats is related to serotonin content in preoptic area.

The precise relation between the brain monoaminergic systems and central fatigue is still unclear. Many studies have demonstrated that cholinergic agonists produce hypothermia when injected intracerebroventricularly or into hypothalamic thermoregulatory centers (Wanner et al 2007; Pires et al 2007; Primola-Gomes et al 2007). These data suggest that cholinergic neurons are involved in thermoregulation. Rodrigues et al. (2004) has demonstrated that a injection intracerebroventricular of physostigmine, an anticholinesterasic agent, during exercise, decreased heat storage and core temperature, without affecting metabolic rate or the time to fatigue. These findings suggest that cholinergic synapses within the preoptic area and the paraventricular nucleus of the rat are important in temperature regulation and this effect may be linked to serotonergic pathways to exert the final thermoregulatory effects (Ishiwata et al. 2001, Takahashi et al. 1993, Gotoh & Smith 1992). These observations emphasize the important interactions between cholinergics and serotonergics neurons in central control of body temperature.

Therefore, this study aims to investigate the possible interaction among of central cholinergic system and 5-HT content in areas of CNS involved in thermoregulation and motor activity such as preoptic area and hippocampus during exercise.

## MATERIALS AND METHODS

Male Wistar rats (270–310 g) were individually housed under 14/10 h light–dark cycles and had free access to water and rat chow. Under anesthesia with 1 mL·kg<sup>-1</sup> (i.p.) of 2.5% tribromoethanol a VitalView Mini-Mitter TR3000 XM-FM (SunRiver, Oregon, USA) temperature sensor was implanted in the peritoneal cavity through a small incision in the linea alba, after calibration to a precision of 0.01 °C. After telemeter implantation, the animals were fixed in a stereotaxic apparatus (David Kopf Instruments, M-900, Tujunga, CA, USA) and a brain guide cannula (22 G) was implanted according to a previously described technique (Lima et al. 2001, 1998). All animals were allowed to recover for 1 week before being used further.

The animals were familiarized to exercise in the motor-driven treadmill by running them daily at a constant speed of 15 m·min<sup>-1</sup> and 5% inclination for 5 min for 5 consecutive days before the experiments. The

purpose of this preliminary exercise was to show the animals in which direction to run. The rats that ran naturally without the use of electric shock were selected for the experiment. All experiments were carried out according to guidelines established by the Ethical Committee for care and use of laboratory animals in the Federal University of Minas Gerais.

Exercise was performed on a motor-driven treadmill from 10 AM to 12 PM at room temperature of  $23 \pm 2$  °C. The intensity of exercise was 20 m·min<sup>-1</sup> and 5% inclination, corresponded to an oxygen uptake of ~70% of VO<sub>2</sub>máx (Lacerda et al. 2006, Brooks & White 1978). Exercise time to fatigue (min) and workload (kgm) were taken as indexes of maximal capacity for exercise. Fatigue was defined as the point when animals were unable to keep pace with the treadmill (Lacerda et al. 2005, Rodrigues et al 2004, Lima et al. 1998). Core temperature (T<sub>b</sub>) was measured by telemetry every 15s as described previously (Soares et al. 2004). On the day of the experiment, the animals were allowed to rest on the treadmill chamber for 1 h in the experimental room before the running test. A 30G needle protruding 0.3mm from the tip of the guide cannula was introduced into the right lateral ventricle and connected to a Hamilton syringe. Each rat received 2.0 µL of 0.15 M NaCl (SAL) ( $n=7$ ) or 2.0 µL of  $5 \times 10^{-3}$  M of physostigmine solution (PHY) ( $n = 6$ ) (Eserine - Sigma, St. Louis, MO) injected into the right lateral cerebral ventricle (Soares et al. 2004, 2003a). Immediately after the injections the syringe and needle were removed and the animals were submitted to a regime of running until fatigue.

Rats were divided into 2 groups were rats receiving PHY or SAL and submitted to running until fatigue. As soon as the fatigue point was reached, the animals were killed by decapitation. The brain was quickly removed and washed with ice-cold saline. The frontal cortex (FC), hippocampus (HC), hypothalamus (HP) and hypothalamic preoptic area (POA) were rapidly dissected out on an ice-cold plate (Soares et al. 2003b, Domingues et al. 2003) and frozen immediately in dry ice and stored thereafter at  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ , until serotonin (5-HT) and 5-hydroxyindoleacetic acid (5-HIAA),—were measured by high-pressure liquid chromatography (HPLC). The HPLC system was equipped with a reverse-phase column (Shim Pack CLC-OSD; 25 cm, 5  $\mu\text{m}$ , Shimadzu). The potential was set at 850 mV versus an Ag/AgCl reference electrode. A mobile phase containing 31.4 g citric acid, 584 mg NaCl, 800 mL miliQ water, 140 mg octylsodium sulfate, 48 mL acetylnitrile and 28 mL tetrahydrofurane (pH 3.0) was filtered and pumped through the system at a flow rate of  $1.0\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ . The brain tissues were weighed and homogenized in perchloric acid (0.1 M) and centrifuged at  $15000 \times g$  for 20 min at  $6\text{ }^{\circ}\text{C}$ , the supernatant were then filtered through a Millipore membrane (0.22 $\mu$  pore size; 13 mm; Millex, SP, Brazil). Twenty microlitres were injected into the HPLC-EC system for analysis (Shimadzu, Kyoto, Japan). Quantification of 5-HT and 5-HIAA was made by comparing the peak area to a standard curve.

The following equations were used to determine change in workload (kgm) and heat storage (HS, cal). Workload (W) was

calculated as  $W = \text{body weight (kg)} \cdot \text{TF} \cdot \text{treadmill speed (m}\cdot\text{min}^{-1}) \cdot \sin \theta$  (treadmill inclination) (Brooks & White 1978, Rodrigues et al. 2003), where TF is time to fatigue. Heat storage (HS) was calculated as  $HS = \Delta Tc \cdot m \cdot c$  where  $\Delta Tc = \text{changes in body temperature } (T_{\text{final}} - T_{\text{initial}})$ ;  $m$  is body weight in grams, and  $c$  is specific heat of body tissues ( $0.826 \text{ cal}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{°C}^{-1}$ ) (Gordon 1993). All data are expressed as mean  $\pm$  S.E.M. A two-way analysis of variance (ANOVA) was used for determining differences between time and treatment and also interactions between them to evaluate the differences in changes of body temperature. Significant interactions observed by ANOVA were further evaluated by Newman-Keuls post hoc analysis to locate significant differences between means. The data were also compared using paired or unpaired Student's  $t$ -tests as applicable. Pearson's correlation coefficient was used to evaluate the relationship between APO 5-HT and APO 5-HIAA content at fatigue and changes in body temperature. The relationship between HC 5-HT and HC 5-HIAA concentration and HS were also assessed using Pearson's correlation. The significance level was set at  $p \leq 0.05$ .

## RESULTS



Injection of PHY did not induce any significant difference in exercise performance compared to SAL-treated rats when measured by time to fatigue (TF) ( $59.33 \pm 3.60$  min PHY *versus*  $51.29 \pm 4.05$  min SAL) or based on the total workload performed ( $26.64 \pm 2.04$  kgm, PHY *versus*  $23.85 \pm 1.91$  kgm, SAL).

Table 1 shows 5-HT and 5-HIAA content in the studied brain areas. At fatigue, 5-HT content was significantly increased in the preoptic area, hippocampus, frontal cortex and hypothalamus of exercised rats compared to the rested group. However, in fatigued PHY-exercised rats the lowest content of 5-HT was in the POA compared to the rested and exercised rats, and the highest, in the hypothalamus. The 5-HIAA content was also significantly increased by exercise mainly in POA as well as in HC and HP. In PHY-exercised rats 5-HIAA levels were increased in HC and HP compared to exercised rats. However, in POA it was observed a decreased of 5-HIAA content in this group compared to SAL-exercised ( $8.21 \pm 0.68$  ng·mg<sup>-1</sup> exercised-PHY *versus*  $13.88 \pm 1.40$  ng·mg<sup>-1</sup> exercised-SAL;  $p < 0.01$ ).

Exercise promoted a increase in core temperature in both groups and the changes in body temperature at fatigue were significantly higher in SAL-treated rats ( $0.92 \pm 0.03$  °C PHY *versus*  $1.17 \pm 0.09$  °C SAL;  $p < 0.05$ ). To compare the total thermal effects of exercise in both experimental groups, HS were calculated. At fatigue, HS of PHY-treated rats were lower than in SAL-treated rats ( $218.4 \pm 10.0$  cal PHY *versus*  $288.3 \pm 22.2$  cal SAL;  $p < 0.03$ ). We also observed a positive correlation between

changes in HS and POA 5-HT concentration ( $r = 0.787$ ;  $p < 0.01$ ) (Fig. 1A), as well as HS and POA 5-HIAA ( $r = 0.894$ ;  $p < 0.01$ ) (Fig. 1B). An inverse relationship was observed between HS and HC-5-HIAA levels ( $r = 0.582$ ;  $p < 0.05$ ) (Fig. 1D). However, there was no correlation between HC 5-HT content and changes in HS at fatigue (Fig. 1C).

## DISCUSSION

The present study demonstrated that the central cholinergic stimulation attenuated a hyperthermia and decreased heat storage in exercising rats is related to serotonin content in preoptic area. As already shown, PHY-exercised rats showed lower increase in body temperature and heat storage fatiguing at the same time than saline-treated group (Rodrigues et al. 2004). Icv injection of PHY decreased 5-HT and 5-HIAA content in POA, which was positively correlated with heat storage (Fig. 1A and 1B). In addition, 5-HHIAA showed a negative correlation to heat storage (Fig. 1D) in the hippocampus induced by cholinergic stimulation. However, there was no correlation among 5-HT and heat storage (Fig. 1C) in this area. The serotonergic neuronal activity, calculated by relation 5-HIAA/5-HT, was not modified by cholinergic system in the POA. But in the hippocampus, PHY-exercised rats showed a increase on the serotonergic neuronal activity mediated by cholinergic system. In spite of this results, the time of exercise was not modified. Thus, our results showing that increased brain PHY availability reduced 5-HT and 5-HIAA

content in POA and increased serotonergic activity in the HC corroborate earlier findings that 5-HT turnover in areas of CNS involved both in thermoregulation and motor activity control change in a different manner in exercising rats (Chaouloff et al. 1989, 1987).

Previously, we showed that, activity of the central cholinergic system during exercise increases heat dissipation mechanisms, protects against the exercise-induced increase in the body temperature, and allows the animal to reach fatigue at lower body temperature without improving its performance (Rodrigues et al. 2004). In previous studies, it has been postulated that two independent cholinergic pathways originate in the anterior pre-optic region and traverse the hypothalamus in a caudal direction to the posterior area (Takahashi et al. 2001a, 2001b). One of these pathways apparently mediates the heat-production system, whereas the other serves the heat loss mechanism, although a chemically mediated heat loss pathway has not been identified in the hypothalamus (Myers & Yaksh 1969, Hall & Myers 1971). However, there are physiological and pharmacological evidences that activation of heat dissipation mechanisms is related to hypothalamic cholinergic activity (Lima et al. 1998, Prímola-Gomes et al. 2007). The present experiment brings further evidences that central cholinergic stimulation promotes decrease in HS during exercise by alterations in the serotonergic system without improving its time to fatigue and performed workload. Furthermore, our data show that treatment with PHY abolished the increase in 5-HT levels observed in the POA of Sal-exercised rats

compared to the rested animals. This suggests that the decreased 5-HT concentration in the POA of PHY-exercised rats might be due to cholinergic stimulation.

There are several evidences suggesting that cholinergic synapses within the preoptic area (Takahashi et al. 2001a, 2001b). In agreement with Gotoh & Smith (1992), the central administration of neostigmine promotes significant increases in hypothalamic noradrenergic and dopaminergic neuronal activities, and significantly suppresses hypothalamic serotonergic neuronal activity. In the way, the effect of the treatment with PHY may be linked to serotonergic (Ishiwata et al. 2001, Takahashi et al. 1993) pathway to exert the final thermoregulatory effects. In our results, icv injection of PHY increased 5-HIAA content and the serotonergic neuronal activity in the HP but the 5-HT content was not modified by cholinergic system compared to the rested animals. In according to Lin et al. (1998) an elevation of hypothalamic serotonergic neuronal activity at nighttime correlates with thermogenic functions in the rat. So, the thermolytic action of PHY can be due a decreased production and release of 5-HT within the brain. However, recently Wanner et al. (2007) demonstrated that cholinergic blockade of the ventromedial hypothalamic nucleus (VMH) increased exercised-induced hyperthermia, leading to great heat storage for any given workload performed. Being like this, it is possible that the heat dissipation mechanisms are controlled in a different way depending on the hypothalamic area involved in this process.

Elevated internal body temperature and increased heat storage have been proposed as limiting factors to physical performance (Rodrigues et al. 2003, Leite et al. 2006). In function of that 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 (Zhang et al. 1997). Data reported by Soares et al (2004) support the hypothesis that both heat storage rate and internal body temperature seem to be important determinants of fatigue during exercise. The mechanisms of fatigue include factors from neurotransmission in the brain (central fatigue) to metabolic factors that disrupt energy provision to active muscles (peripheral fatigue) (Davis 1995, Enoka & Stuart 1992). Increase in 5-HT content in POA is involved in central fatigue with an increase in heat production during exercise (Soares et al. 2007, F. Chaouloff 1997). We have already shown that the central cholinergic stimulation with PHY exerts a protective effect, improving heat loss mechanisms during exercise in rats without affecting running performance. During exercise, in rats, skin blood flow is the principal mechanism to heat loss and it is modulated by adrenergic vasoconstrictor activity (O'leary et al. 1989). Zhang et al. (2003) reported that the arterial baroreceptor reflex modulates the neural mechanisms of the thermoregulatory control of core and skin temperatures in response to heat and cold stresses. Moreover, Pires et al. (2007) demonstrated that stimulation of the central cholinergic synapses during dynamic exercise increased mean arterial pressure, which increased tail cutaneous blood

flow, leading to heat loss without affecting running performance. These authors had also concluded that the thermoregulatory reflex did not determine the increase in tail blood flow after the PHY injection and heat loss probably increased due to increases in exercise-induced pressure response. Therefore, it is reasonable to assume that despite the protective effects that lower body heat should provide against thermal damage, time to fatigue was not extended in Phy-treated animals because the exercise-induced increase in diastolic blood pressure provides a considerable challenge to cardiovascular homeostasis and it might be associated to exercise intolerance (Guazzi et al. 2001). This hypothesis is in agreement with the results found by Pires et al. (2007) where the increase in diastolic blood pressure in Phy-treated rats was inversely related to time to fatigue.

The serotonergic neurons have widespread actions into central nervous system, including control of motor activity. However the role of serotonin in the regulation of motor control is complex. There are many evidences that 5-HT hippocampus is involved in locomotion (Meeusen et al. 1996, takahashi et al. 2000, Wilson et al. 1996). Our data show that at fatigue, hippocampus 5-HT content was not directly correlated with HS (Fig. 1C) although 5-HIAA content was negatively correlated with HS (Fig. 1D). Our results indicated that HC activity serotonergic might participate in fatigue during exercise through other mechanism rather than thermoregulation. This result is in agreement with reports that serotonergic neurons in the median raphe nuclei projecting to the

hippocampus are related to motor activity [Meeusen et al. 1996, Hillegaart et al. 1989]. However, the neurochemical mechanisms that underlie the effect of exercise in the hippocampus 5-HT synthesis and metabolism during TRP loading still remained unknown.

Finally, our results bring further evidences that the cholinergic stimulation promote a decreased 5-HT and 5-HIAA content in POA and it seems to be related with an control in heat production during exercise. In addition, the increase in the 5-HIAA levels in hippocampus in PHY-exercised rats suggests that this brain area is also related to motor activity control during exercise. In conclusion, our data indicated that improve heat loss mechanism mediated by physostigmine in exercising rats is related to serotonin content in preoptic area.

TABLE 1

Table 1: Concentrations of 5-HT and 5-HIAA ( $\text{ng}\cdot\text{mg}^{-1}$ ) and relations of serotonergic neuronal activity (5-HIAA/5-HT) in preoptic area (POA), hippocampus (HC), frontal cortex (FC) and hypothalamus (HP) of rested; exercised saline-treated (Exercised-SAL) and exercise physostigmine-treated (Exercised-PHY) rats.

Tissue	Rested-SAL #			Exercised-SAL			Exercised-PHY		
	5-HT ( $\text{ng}\cdot\text{mg}^{-1}$ )	5-HIAA ( $\text{ng}\cdot\text{mg}^{-1}$ )	5-HIAA/5-HT	5-HT ( $\text{ng}\cdot\text{mg}^{-1}$ )	5-HIAA ( $\text{ng}\cdot\text{mg}^{-1}$ )	5-HIAA/5-HT	5-HT ( $\text{ng}\cdot\text{mg}^{-1}$ )	5-HIAA ( $\text{ng}\cdot\text{mg}^{-1}$ )	5-HIAA/5-HT
POA	2.01 $\pm$ 0.17	2.65 $\pm$ 0.56	1.32 $\pm$ 0.24	3.41 $\pm$ 0.39*	13.88 $\pm$ 1.40*	4.18 $\pm$ 0.29*	1.92 $\pm$ 0.21#	8.21 $\pm$ 0.68##	4.55 $\pm$ 0.68*
HC	1.46 $\pm$ 0.20	0.84 $\pm$ 0.26	0.53 $\pm$ 0.13	2.58 $\pm$ 0.46	2.60 $\pm$ 0.66	1.18 $\pm$ 0.36	1.67 $\pm$ 0.40	5.88 $\pm$ 0.94##	4.12 $\pm$ 0.59##
FC	2.02 $\pm$ 0.70	1.47 $\pm$ 0.85	0.86 $\pm$ 0.40	4.15 $\pm$ 0.47*	2.50 $\pm$ 0.83	0.67 $\pm$ 0.27	3.88 $\pm$ 0.26*	3.20 $\pm$ 1.05	0.88 $\pm$ 0.30
HP	2.84 $\pm$ 0.70	1.24 $\pm$ 0.49	0.38 $\pm$ 0.09	5.49 $\pm$ 0.62*	3.15 $\pm$ 0.70	0.71 $\pm$ 0.25	5.71 $\pm$ 0.83*	8.11 $\pm$ 0.58##	1.54 $\pm$ 0.20##

Running time to fatigue: PHY (59.33  $\pm$  4.01 min); SAL (51.29  $\pm$  4.05 min).

\*  $p \leq 0.05$  compared to rested group.

#  $p \leq 0.05$  compared to Sal-exercised rats.



FIGURE 1

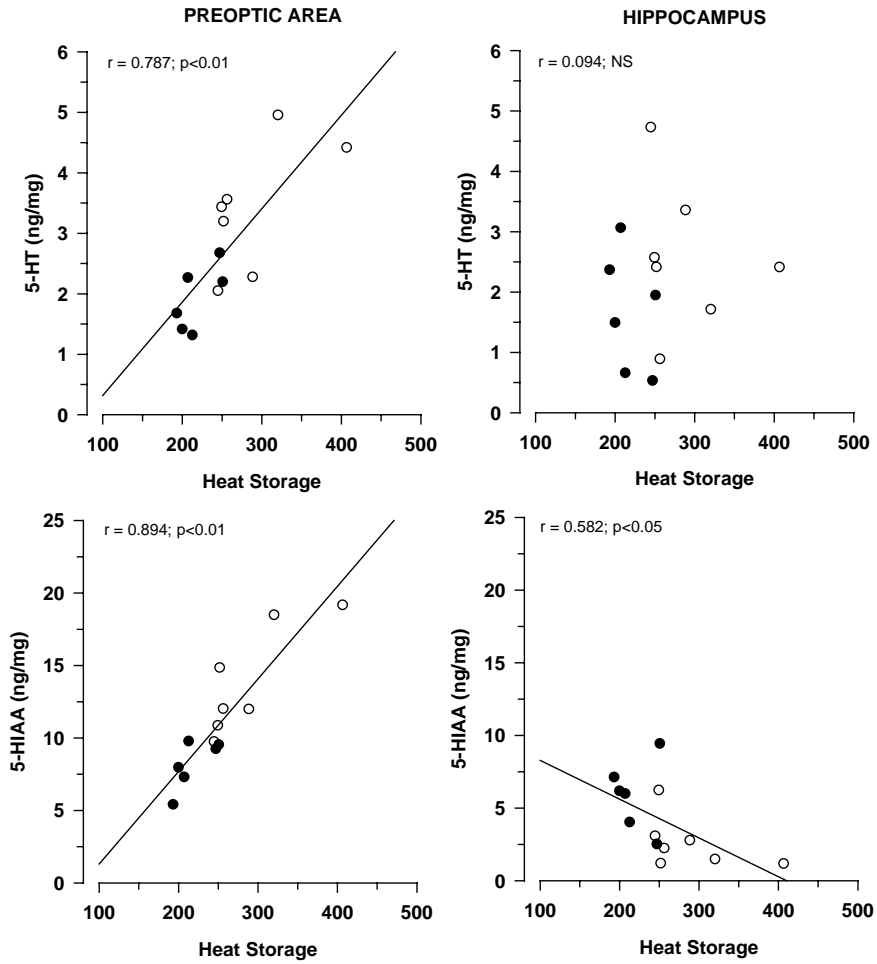


Fig. 1. Correlation between 5-HT and 5-HIAA concentration in central areas (preoptic area and hippocampus) and changes in heat storage in rats treated with 2.0  $\mu$ L of physostigmine ( $5 \times 10^{-3}$  M, filled circle) or 2.0  $\mu$ L of 0.15M NaCl (open circles).

## REFERENCES

G.A. Brooks, T.P. White, Determination of metabolic and heart rate responses of rats to treadmill exercise, *J. Appl. Physiol.* 45 (1978) 1009–1015.

F. Chaouloff, Effects of acute physical exercise on central serotonergic systems. *Med. Sci. Sports Exerc.* 29 (1997): 58-62.

F. Chaouloff, D. Laude, J.L. Elghozi, Physical exercise: evidence for differential consequences of tryptophan on 5-HT synthesis and metabolism in central serotonergic cell bodies and terminals, *J. Neural Transm.* 78 (1989) 121–130.

F. Chaouloff, D. Laude, D. Merino, B. Serrurier, Y. Guezennec, J.L. Elghozi, Amphetamine and alpha-methyl-p-tyrosine affect the exercise-induced imbalance between the availability of tryptophan and synthesis of serotonin in the brain of the rat, *Neuropharmacology* 26 (1987) 1099–1106.

C.C. Coimbra, R.H. Migliorini, Cold-induced free fatty acid mobilization is impaired in rats with lesions in preoptic area. *Neurosci. Letters.* 88 (1988): 1-5.

J.M. Davis, Central and peripheral factors in fatigue. *J. Sports Sci* (1995) 13: S49-S53.

R. Dominguez, S.E. Cruz-Morales, M.C. Carvalho, M. Xavier, M.L. Brandão, Sex differences in serotonergic activity in dorsal and median raphe nucleus, *Physiol. Behav.* 80 (2003) 203–210.

R.M. Enoka and D.G. Stuart. Neurobiology of muscle fatigue. *J. Appl. Physiol.* 72 (1992): 1631-1648.

S.D. Galloway, R.J. Maughan, Effects of ambient temperature on the capacity to perform prolonged cycle exercise in man. *Med. Sci. Sports Exerc.* 29 (1997): 1240-1249.

J. González-Alonso, C. Teller, S.L. Andersen, F.B. Jensen, T. Hyldig, B. Nielsen, Influence of body temperature on the development of fatigue during prolonged exercise in the heat. *J. Appl. Physiol.* 86 (1999): 1032-1039.

C.J. Gordon, Temperature regulation in laboratory rodents. Cambridge Univ. Press. Cambridge, UK, (1993): 8-11.

M. Gotoh, G.A. Smythe, Effects of intracerebroventricularly administered neostigmine on hypothalamic monoaminergic neuronal activities in awake rats. *Brain Res.* 580 (1992): 340-343.

M. Guazzi, D.A. Brenner, C.S. Apstein, K.W. Saupe, Exercise intolerance in rats with hypertensive heart disease is associated with impaired diastolic relaxation. *Hypertension* (2001): 37: 204-208.

G.H. Hall, R.D. Myers, Hypothermia produced by nicotine perfused through the cerebral ventricles of the unanaesthetized monkey. *Neuropharmacology.* 10 (1971): 391-388.

H. Hasegawa, T. Yazawa, M. Yasumatsu, M. Otokawa, Y. Aihara, Alteration in dopamine metabolism in the thermoregulatory center of exercising rats. *Neurosci. Lett.* 289 (2000): 161-164.

V. Hillegaart, S. Hjorth, Median raphe, but not dorsal raphe, application of the 5-HT<sub>1A</sub> agonist 8-OH-DPAT stimulates rat motor activity, *Eur. J. Pharmacol.* 160 (1989): 303-307.

T. Ishiwata, H. Hasegawa, T. Yazawa, M. Otokawa, Y. Aihara. Functional role of the preoptic area and anterior hypothalamus in thermoregulation in freely moving rats. *Neurosci Lett.* 325(3):167-70, 2002.

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

K.M. Kendrick, C. De la Riva, M. Hinton, B.A. Baldwin, Microdialysis measurement of monoamine and amino acid release from the medial preoptic region of the sheep in response to heat exposure. *Brain Res Bull* 22 (1989): 541-544.

A.C.R. Lacerda, U. Marubayashi, C.H. Balthazar, L.H.R. Leite, C.C. Coimbra, Central nitric oxide inhibition modifies metabolic adjustments induced by exercise in rats, *Neurosci. Lett.* 410 (2006) 152-156.

A.C.R. Lacerda, U. Marubayashi, C.C. Coimbra, Nitric oxide pathway is an important modulator of heat loss in rats during exercise. *Brain Res. Bull.* 67 (2005): 110-116.

L.H.R. Leite, A.C.R. Lacerda, U. Marubayashi, C.C. Coimbra, Central angiotensin AT<sub>1</sub>-receptor blockade affects thermoregulation and running performance in rats. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 291 (2006): R603-R607.

N.R.V. Lima, W. Pereira, A.M. Reis, C.C. Coimbra, U. Marubayashi, Prolactin release during exercise in normal and adrenalectomized untrained rats submitted to central cholinergic blockade with atropine, *Horm. Behav.* 40 (2001) 526–532.

N.R.V. Lima, C.C. Coimbra, U. Marubayashi, Effect of intracerebroventricular injection of atropine on metabolic responses during exercise in untrained rats. *Physiol. Behav.* 64 (1998): 69-74.

M.T. Lin, H.J. Tsay, W.H. Su, F.Y. Chueh, Changes in extracellular serotonin in rat hypothalamus affect thermoregulatory function. *Am J Physiol.* 274 (1998):R1260-7.

R. Meeusen, K. Thorre, F. Chaouloff, S. Sarre, K. De Meirleir, G. Ebinger, Y. Michotte, Effects of tryptophan and/or acute running on extracellular 5-HT and 5-HIAA levels in the hippocampus of food-deprived rats, *Brain Res.* 740 (1996) 245–252.

R.D. Myers, T.L. Yaksh, Control of body temperature in the unanaesthetized monkey by cholinergic and aminergic systems in the hypothalamus. *J. Physiol.* 202 (1969): 483-500.

K. Nagashima, S. Nakai, M. Tanaka, K. Kanosue. Neuronal circuitries involved in thermoregulation. *Auton Neurosci.* 85(1-3):18-25, 2000.

D.S. O'Leary, J.M. Johnson, Baroreflex control of the rat tail circulation in normothermia and hyperthermia. *J Appl Physiol* 66 (1989): 1234-1241.

W. Pires, S.P. Wanner, R.B. La Guardia, L.O.C. Rodrigues, C.C. Coimbra, U. Marubayashi, N.R.V. Lima, Intracerebroventricular physostigmine enhances blood pressure and heat loss in running rats. *J. Physiol. Pharmacol.* (2007) 58: 3-17.

T.N. Prímola-Gomes, W. Pires, L.O.C. Rodrigues, C.C. Coimbra, U. Marubayashi, N.R.V. Lima, Activation of the central cholinergic pathways increases post-exercise tail heat loss in rats. *Neurosc. Letters.* (2007) 413:1-5.

L.O.C. Rodrigues, A. Oliveira, N.R.V. Lima, C.A. Machado-Moreira, Effect of heat storage rate on acute fatigue during exercise in rats. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 74 (2003): 357-362.

A.G. Rodrigues, N.R.V. Lima, C.C. Coimbra, U. Marubayashi, Intracerebroventricular physostigmine facilitates heat loss mechanisms in running rats. *J Appl Physiol* 97 (2004): 333–338.

D.D. Soares, N.R.V. Lima, C.C. Coimbra, U. Marubayashi, Evidence that tryptophan reduces mechanical efficiency and running performance in rats. *Neurosci Letters* 415 (2007): 274-278.

D.D. Soares, N.R.V. Lima, C.C. Coimbra, U. Marubayashi, Intracerebroventricular tryptophan increases heating and heat storage rate in exercising rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 78 (2004): 255-261.

D.D. Soares, N.R.V. Lima, C.C. Coimbra, U. Marubayashi, Evidence that tryptophan reduces mechanical efficiency and running performance in rats, *Pharmacol. Biochem. Behav.* 74 (2003a) 357–362.

D. D. Soares, F. Fernandez, S. Aguerre, A. Foury, P. Mormède, F. Chaouloff, Fox odour affects corticosterone release but not hippocampal serotonin reuptake and open field behaviour in rats, *Brain Res.* 961 (2003b) 166–170.

A. Takahashi, E. Kishi, H. Ishimaru, Y. Ikarashi, Y. Maruyama, Role of preoptic and anterior hypothalamic cholinergic input on water intake and body temperature. *Brain Res.* 889 (2001a): 191-199.

A. Takahashi, H. Ishimaru, Y. Ikarashi, E. Kishi, Y. Maruyama, Hypothalamic cholinergic regulation of body temperature and water intake in rats. *Auton. Neurosc.* 94 (2001b): 74-83.

A. Takahashi, Y. Takada, N. Nagai, T. Urano, H. Takada, Serotonergic neurons projecting to hippocampus activate locomotion, *Brain Res.* 869 (2000) 194–202.

A. Takahashi, H. Ishimaru, Y. Ikarashi, Y. Maruyama, Intraventricular injection of neostigmine increases dopaminergic and noradrenergic nerve activities: hyperglycemic effects and neurotransmitters in the hypothalamus. *Neurosci. Letters.* 156 (1993): 54-56.

M. Tanaka, F. Nakamura, S. Mizokawa, A. Matsumura, S. Nozaki, Y. Watanabe, Establishment and assessment of a rat model of fatigue. *Neurosci Lett* 352 (2003): 159-162.

S.P. Wanner, J.B. Guimarães, L.O.C. Rodrigues, U. Marubayashi, C.C. Coimbra, N.R.V. Lima, Muscarinic cholinergic receptors in the ventromedial hypothalamic nucleus facilitate tail heat loss during physical exercise. *Brain Res. Bull.* 73 (2007): 28-33.

W.M. Wilson, C.A. Marsden, In vivo measurement of extracellular serotonin in the ventral hippocampus during treadmill running, *Behav. Pharmacol.* 7 (1996) 101–104.

E. Zeisberger, The roles of monoaminergic neurotransmitters in thermoregulation. *Can J Physiol Pharmacol* 65 (1987): 1395-1401.

Y.H. Zhang D, Ando M, Yamasaki F, Sato T. Carotid-sinus baroreflex modulation of core and skin temperatures in rats: An open-loop approach. *Jpn J Physiol* (2003): 53: 461-466.

Y.H. Zhang, T. Hosono, M. Yanase-Fujiwara, X.M. Chen, K. Kanosue, Effect of midbrain stimulations on thermoregulatory vasomotor responses in rats, *J. Physiol.* 503 (1997): 177–186.

## 8. CONCLUSÕES

A estimulação do sistema colinérgico central durante o exercício físico aumenta a dissipação de calor e atenua o aumento da temperatura corporal induzido pelo exercício, sem afetar o desempenho físico. No entanto, a ativação dos mecanismos de dissipação de calor ocorre independente da supressão da secreção da medula adrenal e pode ser melhorado pela adrenodemedulação prévia. Nossos dados indicam a existência de uma dualidade no controle dos mecanismos de dissipação de calor durante a fase dinâmica do exercício: um envolvendo a ativação do sistema simpato-adrenal que impede a perda de calor e outro que contra-regula o aumento da atividade simpato-adrenal através do sistema colinérgico

hipotalâmico para promover a perda de calor. Além disso, a maior dissipação de calor durante a atividade física estimulada pelo sistema colinérgico parece estar relacionada com a concentração de serotonina e seu metabólito na área pré-óptica.

## 9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Almeida MC. Vias termoeferoras no controle da termogênese e comportamento: Participação do locus ceruleus e hipotálamo dorsomedial. Tese (Doutorado em Fisiologia) - Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2006.
2. Arancibia S, Rage F, Astier H, Tapia-Arancibia L. Neuroendocrine and autonomous mechanisms underlying thermoregulation in cold environment. *Neuroendocrinology*. 64(4):257-67, 1996.
3. Bailey SP.; Davis, J. M. and Ahlborn, E. N. Neuroendocrine and substrate responses to altered brain 5-HT activity during prolonged exercise to fatigue. *J. Appl. Physiol*. 74 (6): 3006-3012, 1993.
4. Boulant JA. Neuronal basis of Hammel's model for set-point thermoregulation. *J Appl Physiol* 100: 1347–1354, 2006

5. Bridge MW, Weller AS, Rayson M, Jones DA. Responses to exercise in the heat related to measures of hypothalamic serotonergic and dopaminergic function. *Eur J Appl Physiol* 89(5):451–9, 2003.
6. Briese E. Normal Body Temperature of Rats: The Setpoint Controversy. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, Vol. 22, No. 3, pp. 427–436, 1998
7. Brito, N. A.; Brito, M. N.; Kettelhut, I. C. and Migliorini, R. H. Intra-ventromedial hypothalamic injection of cholinergic agents induces rapid hyperglycemia, hyperlactatemia and gluconeogenesis activation in fed, conscious rats. *Brain Research*, 626: 339-342, 1993.
8. Brooks GA, White TP. Determination of metabolic and heart rate responses of rats to treadmill exercise. *J. Appl. Physiol.* 45: 1009-1015, 1978.
9. Brown JW, Marvin E. Whitehurst, Christopher J. Gordon and Robert G. Carroll. The Pre-Optic Anterior Hypothalamus (POAH) partially mediates the hypothermic response to hemorrhage in rats *Brain Res.* 1041(1):1-10, 2005.
10. Brück K, Olschewski H. Body temperature related factors diminishing the drive to exercise. *Can J Physiol Pharmacol* 65:1274–80, 1987.
11. Cabanac M. Adjustable set point: to honor Harold T. Hammel. *J Appl Physiol* 100: 1338–1346, 2006
12. Chaouloff F, Laude D, Guezennec Y., Elghozi JL. Motor activity increases tryptophan, 5-hydroxyindoleacetic acid, and homovanillic acid in ventricular cerebrospinal fluid of the conscious rat. *J. Neurochem.* 46: 1313-6, 1989.
13. Chen XM, Hosono T, Mizuno A, Yoda T, Yoshida K, Aoyagi Y and Kanosue K. New apparatus for studying behavioral thermoregulation in rats. *Physiol. Behav* 64(3): 419-424, 1998.
14. Chevuron SN and Haymes, EM. Thermoregulation and Marathon Running: Biological and Environmental Influences. *Sports Med* 31 (10): 743-762, 2001.



15. Clark WG and Lipton JM. Changes in body temperature after administration of adrenergic and serotonergic agents and related drugs including antidepressants, II, *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 10: 153-220, 1986.
16. Clark WG and Lipton JM. Changes in body temperature after administration of amino acids, peptides, dopamine, neuroleptics and related agents, II, *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 9: 299-371, 1985.
17. Cox B, Kerwin RW, Lee TF, Pycock CJ. A dopamine-5-hydroxytryptamine link in the hypothalamic pathways which mediate heat loss in the rat. *J Physiol.* 303: 9-21, 1980.
18. Davis JM and Bailey SP. Possible mechanisms of central nervous system fatigue during exercise. *Med. Sci. Sports Exerc.* 29 (1): 45-57, 1997.
19. Davis JM. Central and peripheral factors in fatigue. *Journal of Sports Sciences* 13: S49-S53, 1995.
20. Dawson NJ, Keber AW. Physiology of heat loss from an extremity: the tail of the rat. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 6(1): 69-80, 1979.
21. De Groot, J. The rat forebrain stereotaxic coordinates. *Proc. K. Ned. Wet.* 62: 1-40, 1959.
22. Domínguez R, Cruz-Morales SE, Carvalho MC, Xavier M, Brandao ML. Sex differences in serotonergic activity in dorsal and median raphe nucleus. *Physiol Behav.* 80(2-3): 203-10, 2003.
23. Enoka RM and Stuart, D. G. Neurobiology of muscle fatigue. *J. Appl. Physiol.* 72 (5): 1631-1648, 1992.
24. Fehlner KS, Gordon CJ. Effect of ambient temperature on thermoregulation in rats following preoptic/anterior hypothalamic injection of physostigmine. *Neuropharmacology.* 24(10): 993-7, 1985.
25. 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 (3): 189-193, 1999.
26. Fuller A, Carter RN, Mitchell D. Brain and abdominal temperatures at fatigue in rats exercising in the heat. *J Appl Physiol.* 84(3):877-883, 1998.
  27. Galloway SD. and Maughan, RJ. Effects of ambient temperature on the capacity of perform prolonged cycle exercise in man. *Med Sci Sports Exerc* 29: 1240-1249, 1997.
  28. 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
  29. Cambridge, MA: Massachusetts Institute of Technology Press, p. 95–119, 2000.
  30. Gleeson M. Physiology of body temperature regulation: temperature regulation during exercise. *Int J Sports Med.* 19:96-99, 1998.
  31. González-Alonso J, Teller C, Andersen SL, Jensen FB, Hyldig T, Nielsen B. Influence of body temperature on the development of fatigue during prolonged exercise in the heat. *J Appl Physiol.* 86(3):1032-9, 1999.
  32. Gordon, CJ. Thermoregulatory aspects of environmental exposure to anticholinesterase agents. *Rev. Environ. Health* 11(3): 101-17, 1996.
  33. Gordon CJ. Thermal biology of the laboratory rat. *Physiol. Behav.* 47 (5): 963-991, 1990.
  34. Gotoh, M.; Smythe, G. A. Effects of intracerebroventricularly administered neostigmine on hypothalamic monoaminergic neuronal activities in awake rats. *Brain Research* 586: 340-343, 1992.
  35. Hammel HT, Jackson DC, Stolwijk JAJ, Hardy JD, and Stromme SB. Temperature regulation by hypothalamic proportional control with an adjustable set point. *J Appl Physiol* 18: 1146–1154, 1963.

36. Hammel HT, Hardy JD, and Fusco MM. Thermoregulatory responses to hypothalamic cooling in unanesthetized dogs. *Am J Physiol* 198: 481–486, 1960.
37. HARDY JD. Physiology of temperature regulation. *Physiol Rev.* 1961 Jul;41:521-606.
38. Hasegawa H, Piacentini MF, Sarre S, Michotte Y, Ishiwata T, Meeusen R. Influence of brain catecholamines on the development of fatigue in exercising rats in the heat. *J Physiol.* 586(1): 141-9, 2008.
39. Hasegawa H, Ishiwata T, Saito T, Yazawa T, Aihara Y, Meeusen R. Inhibition of the preoptic area and anterior hypothalamus by tetrodotoxin alters thermoregulatory functions in exercising rats. *J Appl Physiol* 98: 1458–1462, 2005.
40. Hasegawa H, Yazawa T, Yasumatsu M, Otokawa M, Aihara Y. Alteration in dopamine metabolism in the thermoregulatory center of exercising rats. *Neurosci Lett.* 289(3): 161-4, 2000.
41. Heyes MP, Garnett ES, Coates G. Nigrostriatal dopaminergic activity is increased during exhaustive exercise stress in rats. *Life Sci.* 42(16):1537-42, 1988
42. Iguchi, A.; Kunoh, Y.; Gotoh, M.; Miura, H.; Uemura, K.; Tamagawa, T. and Sakamoto, N. Relative contribution of nervous system and hormones to CNS-mediated hyperglycemia is determined by the neurochemical specificity in the brain. *Physiol. Behav.* 50 (5): 1019-1025, 1991.
43. Iguchi, A.; Yatomi, A.; Gotoh, M.; Matsunaga, H.; Uemura, K.; Miura, H.; Satake, T.; Tamagawa, T. and Sakamoto, N. Neostigmine-induced hyperglycemia is mediated by central muscarinic receptor in fed rats. *Brain Research* 507: 295-300, 1990.
44. Iguchi, A.; Kunoh, Y.; Miura, H.; Uemura, K.; Yatomi, A.; Tamagawa, T.; Kawahara, H. and Sakamoto, N. Central nervous system control of glycogenolysis and gluconeogenesis in fed and fasted rat liver. *Metabolism* 138: 1216-1221, 1989.

45. Iguchi, A.; Gotoh, M.; Matsunaga, H.; Yatomi, A; Honmura, A.; Yanase, M. and Sakamoto, N. Relative contributions of the nervous system and hormones to CNS-mediated hyperglycemia. *Am. J. Physiol.* 255 (Endocrinol. Metab. 18): E920-E927, 1988.
46. Iguchi, A.; Gotoh, M.; Matsunaga, H.; Yatomi, A; Honmura, A.; Yanase, M. and Sakamoto, N. Mechanism of central hyperglycemic effect of cholinergic agonists in fasted rats. *Am. J. Physiol.* 251 (Endocrinol. Metab. 14): E431-E437, 1986.
47. Iguchi, A.; Matsunaga, H.; Gotoh, M.; Nomura, T.; Yatomi, A. and Sakamoto, N. Central hyperglycemic effect of adrenaline and carbachol. *Acta Endocrinologica* 109: 440-445, 1985.
48. Ishiwata T, Saito T, Hasegawa H, Yazawa T, Kotani Y, Otokawa M, Aihara Y. Changes of body temperature and thermoregulatory responses of freely moving rats during GABAergic pharmacological stimulation to the preoptic area and anterior hypothalamus in several ambient temperatures. *Brain Res.* 1048(1-2):32-40, 2005
49. Ishiwata T, Saito T, Hasegawa H, Yazawa T, Otokawa M, Aihara Y. Changes of body temperature and extracellular serotonin level in the preoptic area and anterior hypothalamus after thermal or serotonergic pharmacological stimulation of freely moving rats. *Life Sci.* 75(22):2665-75, 2004
50. Ishiwata T, Hasegawa H, Yazawa T, Otokawa M, Aihara Y. Functional role of the preoptic area and anterior hypothalamus in thermoregulation in freely moving rats. *Neurosci Lett.* 325(3):167-70, 2002.
51. Ishiwata T, Hasegawa H, Yasumatsu M, Akano F, Yazawa T, Otokawa M, Aihara Y. The role of preoptic area and anterior hypothalamus and median raphe nucleus on thermoregulatory system in freely moving rats. *Neurosci Lett.* 306(1-2):126-8, 2001.
52. Kanouse K, Hosono T, Zhang YH, Chen XM. Neuronal networks controlling thermoregulatory effectors. *Prog Brain Res.* 115:49-62, 1998.

53. Kotecha N, Neild TO. Effects of endothelium-derived relaxing factor on the smooth muscle of the rat tail artery. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 13 (3): 249-57, 1986.
54. Lacerda AC, Marubayashi U, Balthazar CH, Coimbra CC. Evidence that brain nitric oxide inhibition increases metabolic cost of exercise, reducing running performance in rats. *Neurosci Lett.* 393(2-3):260-3, 2006.
55. Lacerda AC, Marubayashi U, Coimbra CC. Nitric oxide pathway is an important modulator of heat loss in rats during exercise. *Brain Res Bull.* 67(1-2):110-6, 2005.
56. Landsberg L; Saville ME and Young JB. Sympathoadrenal system and regulation of thermogenesis. *Am. J. Physiol.* 247 (Endocrinol. Metab. 10): E181-E189, 1984.
57. Leite LH, Lacerda AC, Balthazar CH, Marubayashi U, Coimbra CC. Central AT(1) receptor blockade increases metabolic cost during exercise reducing mechanical efficiency and running performance in rats. *Neuropeptides.* 41(3):189-94, 2007.
58. Leite LH, Lacerda AC, Marubayashi U, Coimbra CC. Central angiotensin AT1-receptor blockade affects thermoregulation and running performance in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 291(3):R603-7, 2006.
59. Li J, Brezenoff HE, Tkacs NC. Identification of pressor regions activated by central cholinergic stimulation in rat brain. *Eur J Pharmacol.* 1997 Oct 22;337(2-3):227-33.
60. Lin MT, Tsay HJ, Su WH, Chueh FY. Changes in extracellular serotonin in rat hypothalamus affect thermoregulatory function. *Am J Physiol.* (5 Pt 2):R1260-7, 1998.
61. Lin, M. T.; Wang, H. C. and Chandra, A. The effects on thermoregulation of intracerebroventricular injections of acetylcholine, pilocarpine, physostigmine, atropine and hemicholinium in the rat. *Neuropharmacology* 19: 561-565, 1980.

62. Lin, M. T.; Chen, F. F.; Chern, Y. F and Fung, T. C. The role of the cholinergic system in the central control of thermoregulation in rats. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 57(11): 1205-1212, 1979.
63. Lima NRV, Pereira W, Reis AM, Coimbra CC, Marubayashi U. Prolactin release during exercise in normal and adrenodemedullated untrained rats submitted to central cholinergic blockade with atropine. *Horm. Behav.* 40: 526-532, 2001.
64. Lima, N. R. V.; Coimbra, C. C. and Marubayashi, U. Effect of intracerebroventricular injection of atropine on metabolic responses during exercise in untrained rats. *Physiol. Behav.* 64 (1): 69-74, 1998.
65. Maickel RP, Kinney DR, Ryker D and Nichols MB. Time course of physostigmine effects on neuroendocrine responding at varying environmental temperatures. *Prog. Neuro-Psychopharmacol. & Biol. Psychiat.* 12: 935-949, 1988.
66. Mallick BN, Joseph MM. Role of cholinergic inputs to the medial preoptic area in regulation of sleep-wakefulness and body temperature in freely moving rats. *Brain Res.* 750(1-2):311-7, 1997.
67. Migliorini, R.H.; Garofalo, M.A.R.; Roselino, J.E.S. and Kettelhut, I. C. Rapid activation of gluconeogenesis after intracerebroventricular carbachol. *Am. J. Physiol.* 257 (Endocrinol. Metab. 20): E486-E490, 1989.
68. Myers RD, Yaksh TL. Control of body temperature in the unanaesthetized monkey by cholinergic and aminergic systems in the hypothalamus. *J. Physiol.* 202 (2): 483-500, 1969.
69. Nagashima K, Nakai S, Tanaka M, Kanosue K. Neuronal circuitries involved in thermoregulation. *Auton Neurosci.* 85(1-3):18-25, 2000.
70. Nakayama T, Eisenman JS, and Hardy JD. Single unit activity of anterior hypothalamus during local heating. *Science* 134: 560-561, 1961.
71. Newsholme EA.; Blomstrand E. Tryptophan, 5-hydroxytryptamine and a possible explanation for central fatigue. *Adv. Exp. Med. Biol.* 384:315-20, 1995.

72. Newsholme EA, Blomstrand E, Ekblom B. Physical and mental fatigue: metabolic mechanisms and importance of plasma amino acids, *Br. Med.Bull.* 48: 477–495, 1992.
73. Nielsen B, Hyldig T, Bidstrup F, Gonzalez-Alonso J & Christoffersen GR. Brain activity and fatigue during prolonged exercise in the heat. *Pflugers Arch* 442, 41–48, 2001.
74. Nybo L & Nielsen B. Hyperthermia and central fatigue during prolonged exercise in humans. *J Appl Physiol* 91, 1055–1060, 2001a.
75. Nybo L & Nielsen B. Perceived exertion is associated with an altered brain activity during exercise with progressive hyperthermia. *J Appl Physiol* 91: 2017–2023, 2001b.
76. Nybo L. Hyperthermia and fatigue. *J Appl Physiol.* 104 (3): 871-878, 2008.
77. O'Leary DS, Johnson JM, Taylor WF. Mode of neural control mediating rat tail vasodilation during heating. *J Appl Physiol.* 59(5):1533-8, 1985.
78. Osaka T. Cold-induced thermogenesis mediated by GABA in the preoptic area of anesthetized rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 287(2):R306-13, 2004.
79. Osaka T, Kobayashi A, Inoue S. Thermogenesis induced by osmotic stimulation of the intestines in the rat. *J Physiol.* 532(Pt 1):261-9, 2001.
80. Piacentini MF, Clinckers R, Meeusen R, Sarre S, Ebinger G & Michotte Y. Effect of bupropion on hippocampal neurotransmitters and on peripheral hormonal concentrations in the rat. *J Appl Physiol* 95, 652–656, 2003.
81. Pires W, Wanner SP, La Guardia RB, Rodrigues LO, Silveira SA, Coimbra CC, Marubayashi U, Lima NR. Intracerebroventricular physostigmine enhances blood pressure and heat loss in running rats. *J Physiol Pharmacol.* 58(1):3-17, 2007.

82. Rand RP, BURTON AC, ING T. The tail of the rat, in temperature regulation and acclimatization. *Can J Physiol Pharmacol.* 43:257-67, 1965.
83. Rathner JA, McAllen RM. Differential control of sympathetic drive to the rat tail artery and kidney by medullary premotor cell groups. *Brain Res.* 834(1-2):196-9, 1999.
84. Ricardo JA, Koh ET. Anatomical evidence of direct projections from the nucleus of the solitary tract to the hypothalamus, amygdala, and other forebrain structures in the rat. *Brain Res.* 153(1):1-26, 1978.
85. Richelson E & Pfenning M. Blockade by antidepressants and related compounds of biogenic amine uptake into rat brain synaptosomes: most antidepressants selectively block noradrenaline uptake. *Eur J Pharmacol* 104, 277–286, 1984.
86. Rodrigues AG, Lima NRV, Coimbra CC, Marubayashi U. Intracerebroventricular physostigmine facilitates heat loss mechanisms in running rats, *J. Appl. Physiol.* 97: 333–338, 2004
87. Rodrigues, LOC, Oliveira A, Lima, NRV, Machado-Moreira, CA. Heat storage rate and acute fatigue in rats. *Braz J Med Biol Res* 36:131-5, 2003.
88. Romanovsky AA. Thermoregulation: some concepts have changed. Functional architecture of the thermoregulatory system. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 292: R37–R46, 2007.
89. Romanovsky, AA. Do fever and anapyrexia exist? Analysis of set point based definitions. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 287: R992–R995, 2004.
90. 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. *Brazilian J. Med. Biol. Res.* 23: 831-834, 1990.
91. Sell H, Deshaies Y, Richard D. The brown adipocyte: update on its metabolic role. *Int J Biochem Cell Biol.* 36 (11): 2098-104, 2004.



92. Shellock FG and Rubin SA. Temperature regulation during treadmill exercise in the rat. *J Appl Physiol* 57: 1872–1877, 1984.
93. Silveira SA, Viana Lima NR, Haibara AS, Coimbra CC. The hypothalamic paraventricular nucleus and carotid receptors modulate hyperglycemia induced by hemorrhage. *Brain Res.* 993(1-2):183-91, 2003.
94. Soares DD, Coimbra CC, Marubayashi U. Tryptophan-induced central fatigue in exercising rats is related to serotonin content in preoptic area. *Neurosci Lett.* 415(3): 274-8, 2007.
95. Soares DD; Lima NR; Coimbra CC; Marubayashi U. Intracerebroventricular tryptophan increases heating and heat storage rate in rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* Vol 78 (2): 255-261, 2004.
96. Soares DD; Lima NR; Coimbra CC; Marubayashi U. Evidence that tryptophan reduces mechanical efficiency and running performance in rats. *Pharmacol Biochem Behav.* Jan;74(2):357-62, 2003.
97. Sonne B; Galbo H. Simultaneous determinations of metabolic and hormonal responses, heart rate, temperature and oxygen uptake in running rats. *Acta Physiol. Scand.* 109:201–209; 1980.
98. Tanaka M, Nagashima K, McAllen RM, Kanosue K. Role of the medullary raphé in thermoregulatory vasomotor control in rats. *J Physiol.* 540(Pt 2):657-64, 2002.
99. Takashi A, Ishimaru H, Ikarashi Y, Kishi E, Maruyama Y. Opposite regulation of body temperature by cholinergic input to the paraventricular nucleus and supraoptic nucleus in rats. 909:102–11, 2001.
100. Takahashi, A.; Ishimaru, H.; Ikarashi, Y.; Kishi, E. and Maruyama, Y. Hypothalamic cholinergic activity and 2-deoxyglucose-induced hyperglycemia. *Brain Research* 43(1): 65-68, 1997.

101. Takahashi, A.; Ishimaru, H.; Ikarashi, Y. and Maruyama, Y. Intraventricular injection of neostigmine increases dopaminergic and noradrenergic nerve activities: hyperglycemic effects and neurotransmitters in the hypothalamus. *Neurosci. Lett.* 156: 54-56, 1993.
102. Thorin E, Atkinson J. Modulation by the endothelium of sympathetic vasoconstriction in an in vitro preparation of the rat tail artery. *Br J Pharmacol.* 111 (1): 351-7, 1994.
103. Walters TJ., K. L. Ryan, L. M. Tate, and P. A. Mason. Exercise in the heat is limited by a critical internal temperature. *J Appl Physiol* 89: 799–806, 2000
104. Wanner, S.P.; Guimarães, J.B.; Rodrigues, L.O.C.; Marubayashi, U.; Coimbra, C.C.; Lima, N.R.V. Muscarinic cholinergic receptors in the ventromedial hypothalamic nucleus facilitate tail heat loss during physical exercise. *Brain Res. Bull.* 73: 28-33, 2007.
105. Watson P, Hasegawa H, Roelands B, Piacentini MF, Loooverie R, Meeusen R. Acute dopamine/noradrenaline reuptake inhibition enhances human exercise performance in warm, but not temperate conditions. *J Physiol.* 565(Pt 3):873-83, 2005.
106. Webb P. The physiology of heat regulation. *Am J Physiol.* 268: R838-850, 1995.
107. 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.
108. Zhang D, Ando M, Yamasaki F, Sato T. Carotid-sinus baroreflex modulation of core and skin temperatures in rats: An open-loop approach. *Jpn J Physiol* 53: 461-466, 2003.
109. Zhang YH, T Hosono, M Yanase-Fujiwara, X M Chen and K Kanosue. Effect of midbrain stimulations on thermoregulatory vasomotor responses in rats. *J. Physiol.* 503:177-186, 1997.

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

# 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](#)