



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM EDUCAÇÃO FÍSICA

ALAN SANTOS PIMENTEL

**IMPLICAÇÕES TERMORREGULATÓRIAS DOS RECEPTORES AT2 CENTRAIS
DURANTE O EXERCÍCIO FÍSICO EM RATOS**

JUIZ DE FORA
2014

ALAN SANTOS PIMENTEL

**IMPLICAÇÕES TERMORREGULATÓRIAS DOS RECEPTORES AT2 CENTRAIS
DURANTE O EXERCÍCIO FÍSICO EM RATOS**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Educação Física, da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF) em parceria com a Universidade Federal de Viçosa (UFV), como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Educação Física por Alan Santos Pimentel

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Laura Hora Rios Leite

JUIZ DE FORA
2014

ALAN SANTOS PIMENTEL

**IMPLICAÇÕES TERMORREGULATÓRIAS DOS RECEPTORES AT2 CENTRAIS
DURANTE O EXERCÍCIO FÍSICO EM RATOS**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Educação Física, da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF) em parceria com a Universidade Federal de Viçosa (UFV), como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Educação Física por Alan Santos Pimentel

APROVADA EM __/__/__

BANCA EXAMINADORA

Prof.º. Dr.º. Cândido Celso Coimbra
Universidade Federal de Minas Gerais

Prof.ª. Dr.ª Vera Maria Peters
Universidade Federal de Juiz de Fora

Orientadora: Prof.ª. Dr.ª. Laura Hora Rios Leite
Universidade Federal de Juiz de Fora

*“Nas grandes batalhas da vida, o primeiro
passo para a vitória é o desejo de vencer”
Mahatma Gandhi*

AGRADECIMENTOS

A minha esposa Danielle por todo amor e carinho, pelo o apoio incessante em minha jornada, sempre ao meu lado me dando total suporte em todas as horas.

Aos meus pais Eronides Simião Pimentel e Maria Geralda Santos Pimentel, pilares da minha formação, devo tudo a vocês. Obrigado Mãe pelo incentivo em meus estudos, e por ter-me “obrigado” a mudar para Juiz de Fora no ano 2000, sem você não estaria aqui hoje.

Aos meus irmãos Eron e André por todo amor e compreensão, amo vocês.

À professora e amiga Laura Hora Rios Leite, por toda dedicação, compreensão e ensinamentos, por me fazer crer que poderia desenvolver meu trabalho e por acreditar e depositar sua confiança em mim. Obrigado.

À Professora e amiga Ana Eliza Andreazzi, muito obrigado por todo apoio e incentivo e por ter aberto as portas para o início de minha caminhada.

Aos companheiros de laboratório Katiuscia, Flávia, Edson, Bruna, Rafaela, Daniela, Sacramento, Bruno, Cássio, Tamires, Thayane, Edson da manutenção, que durante estes anos sempre me deram total suporte para o desenvolvimento do meu trabalho.

Aos amigos e Professores da FAEFID, obrigado por terem sido toda base para eu chegar até aqui, sem vocês a caminhada certamente seria improvável.

Aos amigos do CBR/UFJF, Prof^a Vera, Pedro, Clemilsson, agradeço por toda organização e profissionalismo, por nos mostrar que a ética é o primeiro passo para se realizar um trabalho com integridade e compromisso. Devo muito aos nossos queridos animais, que em prol do conhecimento doaram suas vidas, sem eles nada seria possível.

Aos companheiros de trabalho da Fortes Academia, agradeço pela compreensão e paciência nos momentos em que fui ausente. Obrigado por tudo.

Aos amigos do mestrado, Santiago Paes, Thiago Goulart e Arthur Henrique Bossi, valeu cada minuto juntos, obrigado pelo apoio e pelos ensinamentos, vocês são parte fundamental deste trabalho.

A todos os amigos que sempre me incentivaram e vibraram com minhas conquistas, certamente esta força positiva que veio de vocês fez toda diferença.

RESUMO

Objetivo: avaliar o efeito do bloqueio central do receptor AT2 para angiotensina II nas respostas termorregulatórias em ratos durante o exercício físico. **Material e métodos:** foram utilizados ratos Wistar, não treinados, pesando entre 240-350 g. Os animais portavam cânula no ventrículo cerebral lateral direito para administração de 2 μ L de PD (10 μ g, n = 7) ou de 0,15 M NaCl (SAL, n = 7). A temperatura corporal interna (T_c), determinada por telemetria através de sensor de temperatura implantado na cavidade intraperitoneal do rato, e a temperatura da cauda (T_{cauda}) foram medidas durante o repouso e enquanto os animais realizavam exercício submáximo a uma velocidade de 18 m/min, 5 % de inclinação, até a fadiga. A partir dos dados obtidos foram determinados: a taxa de aquecimento corporal (BHR), a taxa de calor acumulado (HSR), o limiar térmico de vasodilatação da cauda (TT_{cV}), o tempo total de exercício (TTE) e o trabalho (W). **Resultados:** Durante o repouso, a T_c dos animais de ambos os grupos permaneceu estável e diferenças não foram encontradas entre os tratamentos. Observou-se que a administração icv de PD promoveu aumento de 17 % no TTE ($18 \pm 1,8$ min, PD vs. $15 \pm 2,1$ min, SAL, $p < 0,01$) e de 20 % no W quando comparado com os controles ($4,62 \pm 0,34$ kgm, PD vs. $3,74 \pm 0,4$ kgm, SAL, $p < 0,01$). Apesar dos ratos injetados com PD apresentarem aumento semelhante da T_c durante o exercício físico, no ponto de fadiga verificou-se maior variação da T_c ($2,37 \pm 0,24$ °C, PD; $1,73 \pm 0,21$ °C, SAL, $p < 0,05$). Entretanto, durante o exercício físico, diferenças não foram encontradas entre a BHR ($0,14 \pm 0,01$ °C.min⁻¹, PD vs. $0,13 \pm 0,02$ °C.min⁻¹, SAL), a HSR ($33,75 \pm 1,37$ cal. min⁻¹, PD vs. $30,9 \pm 2,82$ cal. min⁻¹, SAL) e o TT_{cV} ($37,75 \pm 0,12$ °C, PD vs. $37,61 \pm 0,15$ °C, SAL) entre os grupos. Adicionalmente, a partir do 13º minuto até a fadiga, a variação da T_{cauda} foi maior nos animais PD ($4,87 \pm 0,44$ °C, PD; $3,10 \pm 0,57$ °C, SAL, $p < 0,05$), que se mostrou intimamente relacionado com o TTE aumentado ($r = 0,871$, $p < 0,01$). **Conclusões:** Os dados mostram que o bloqueio do receptor AT2 melhora o balanço térmico durante o exercício físico devido a maior habilidade de dissipar calor, consequentemente contribuindo para aprimoramento do desempenho físico. **Palavras chave:** PD, receptor AT2, vasodilatação da cauda, fadiga e balanço térmico.

ABSTRACT

Aim: The aim of the study was to verify the effect of central angiotensin II AT2 receptor blockade in thermoregulatory responses during exercise in rats. **Material and methods:** Wistar rats weighing between 250 and 350g. Were implanted with a guide cannula in the right lateral cerebral ventricle for administration of 2 μ L PD (10 μ g, n = 7) or 0,15 M NaCl (SAL, n = 7). The internal body temperature (T_b) was determined by telemetry via a temperature sensor implanted in the animal's intraperitoneal cavity. The tail temperature (T_{tail}) was measured using a temperature sensor attached to the animal's tail. Both temperatures were measured continuously, during resting and while the animals performed submaximal exercise at a speed of 18m/min and 5% inclination, until failure. From the data obtained, body heating rate (BHR), heat storage rate (HSR), body temperature threshold for tail vasodilation (TT_bV), time to fatigue (TTF) and workload (W) were determined. **Results:** T_b remained stable in both group, and no difference was seen between treatments during a resting period. It was observed that icv administration of PD promoted an increase of 17% in the TTF ($18 \pm 1,8$ min, PD vs. $15 \pm 2,1$ min, SAL, $p < 0,01$), and of 20% in the W, when compared with controls ($4,62 \pm 0,34$ kgm, PD vs. $3,74 \pm 0,4$ kgm, SAL, $p < 0,01$). Despite that the rats injected with PD exhibited similar increase in T_b during exercise, at fatigue point it was found greater variation of T_b ($2,37 \pm 0,24$ °C, PD; $1,73 \pm 0,21$ °C, SAL, $p < 0,05$). However, no difference was seen between BHR ($0,14 \pm 0,01$ °C. min^{-1} , PD vs. $0,13 \pm 0,02$ °C. min^{-1} , SAL), HSR ($33,75 \pm 1,37$ cal. min^{-1} , PD vs. $30,9 \pm 2,82$ cal. min^{-1} , SAL) and TT_bV ($37,75 \pm 0,12$ °C, PD vs. $37,61 \pm 0,15$ °C, SAL) in both group. Additionally, from the 13^o minute of exercise until fatigue, T_{tail} variation was higher in PD animals ($4,87 \pm 0,44$ °C, PD; $3,10 \pm 0,57$ °C, SAL, $p < 0,05$), and closely related with the increased TTF ($r = 0,871$, $p < 0,01$). **Conclusion:** The data shows that AT2 receptor blockade improves heat balance during exercise due to better ability to dissipate heat, which contributed to superior exercise performance. **Key words:** PD, AT2 receptor, tail vasodilatation, fatigue and heat balance.

LISTA DE TABELA E GRÁFICOS

Tabela 1	Efeito da injeção intracerebroventricular de 2 μ L de PD (10 μ g, n = 8) ou 0,15 M NaCl (SAL, n = 8) sobre a temperatura corporal interna (T_c) durante o repouso.....	28
Gráfico 1	Efeito da injeção intracerebroventricular de 2 μ L de PD (5 μ g, n = 7; 10 μ g, n = 7; 20 μ g, n = 7) ou de 0,15 M NaCl (SAL, n = 7) sobre a temperatura da cauda (T_{cauda}) no ponto de fadiga.....	29
Gráfico 2	Efeito da injeção intracerebroventricular de 2 μ L de PD (10 μ g, n = 7) ou de 0,15 M NaCl (SAL, n = 7) sobre o tempo total de exercício (TTE) e sobre o trabalho (W) durante o exercício até a fadiga.....	30
Gráfico 3	Efeito da injeção intracerebroventricular de 2 μ L de PD (10 μ g, n = 7) ou de 0,15 M NaCl (SAL, n = 7) sobre a temperatura corporal interna (T_c) e temperatura da cauda (T_{cauda}) durante o exercício até a fadiga.....	32
Gráfico 4	Correlação entre temperatura da cauda (T_{cauda}) no ponto de fadiga e tempo total de exercício (TTE).....	33
Gráfico 5	Efeito da injeção intracerebroventricular de 2 μ L de PD (10 μ g, n = 7) ou de 0,15 M NaCl (SAL, n = 7) sobre a taxa de aquecimento corporal (BHR) e taxa de acúmulo de calor (HSR) durante o exercício até a fadiga.....	34
Gráfico 6	Efeito da injeção intracerebroventricular de 2 μ L de PD (10 μ g, n = 7) ou de 0,15 M NaCl (SAL, n = 7) sobre o limiar de vasodilatação da cauda (TTcV) durante o exercício até a fadiga	35

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ΔT_c	<i>Variação da temperatura corporal interna</i>
5 H-T	<i>Serotonina</i>
AH	<i>Hipotálamo anterior</i>
ANG I	<i>Angiotensina I</i>
ANG II	<i>Angiotensina II</i>
ANOVA	<i>Análise de Variância</i>
AT1	<i>Receptores transmembrana de angiotensina tipo 1</i>
AT2	<i>Receptores transmembrana de angiotensina tipo 2</i>
BHR	<i>Taxa de aquecimento corporal</i>
c	<i>Calor específico</i>
Cal	<i>caloria</i>
DA	<i>Dopamina</i>
ECA	<i>Enzima conversora de angiotensina</i>
HS	<i>Acúmulo de calor</i>
HSR	<i>Taxa de acúmulo de calor</i>
icv	<i>Intracerebroventricular</i>
IL-1	<i>Interleucina-1</i>
Ip	<i>Intraperitoneal</i>
Kgm	<i>Kilogramas por metro</i>
m	<i>Massa corporal (gramas)</i>
min	<i>minuto</i>
°C	<i>Grau Celcius</i>
PD	<i>PD 123319, antagonista do receptor AT2</i>
POA	<i>Area pré-óptica</i>
SAL	<i>Solução salina, NaCl</i>
senα	<i>Inclinação da esteira</i>
SNC	<i>Sistema nervoso central</i>
SRA	<i>Sistema renina angiotensina</i>
T_a	<i>Temperatura ambiente</i>
T_c	<i>Temperatura corporal interna</i>
T_{cauda}	<i>Temperatura da cauda</i>

TT_cV	<i>Limiar térmico para vasodilatação da cauda</i>
TTE	<i>Tempo total de exercício até a fadiga</i>
V	<i>Velocidade da esteira (m.min⁻¹)</i>
VLD	<i>Ventrículo cerebral lateral direito</i>
W	<i>Trabalho</i>

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO	12
1.1. Temperatura Corporal Interna	12
1.2. Regulação da T_c durante o Exercício Físico	15
1.3. Fadiga Central e Hipertermia.....	16
1.4. O Sistema Renina-Angiotensina e a Termorregulação durante o Exercício Físico	18
2. OBJETIVOS	22
3. MATERIAL E MÉTODOS	23
3.1 Aprovação Ética.....	23
3.2 Amostra	23
3.3 Familiarização ao Exercício Físico	23
3.4 Procedimentos Cirúrgicos	24
3.4.1 Canulação Central.....	24
3.4.2 Implante do Sensor de Temperatura	25
3.5 Temperatura Ambiente, Corporal e da Cauda	25
3.6 Exercício Físico	26
3.6.1 Protocolo Experimental	26
3.7 Cálculos	27
3.8 Análise Estatística	27
4. RESULTADOS	28
6. DISCUSSÃO	36
7. CONCLUSÃO	42
REFERÊNCIAS	43

1. INTRODUÇÃO

1.1. TEMPERATURA CORPORAL INTERNA

A temperatura corporal interna (T_c) é um sinal vital indicador da temperatura dos órgãos internos, tais como encéfalo e vísceras abdominais, e se mantém dentro de limites estreitos de variação ($\pm 1^\circ\text{C}$), sendo regulada por ajustes na dissipação e na produção de calor (RODRIGUES et al., 2003, WEEB, 1995 e GORDON, 1990). O parâmetro térmico mais comumente utilizado nos estudos com o modelo animal é a T_c . No caso dos ratos, o valor basal da T_c permanece dentro da faixa de 37° e 38° C (BRIESE, 1998). Esses valores de T_c apresentam variações diárias durante o ciclo circadiano, sendo que no período noturno verifica-se temperaturas mais elevadas pelo fato de ser o período de maior atividade do animal. Além disso, a T_c pode flutuar rapidamente quando o rato é submetido a situações de estresse, tais como o barulho ou o simples manuseio, elevando temporariamente seus valores (BRIESE, 1998; GORDON, 1990).

Independentemente da temperatura ambiente de exposição, a regulação da T_c em animais homeotérmicos se dá através da integração de mecanismos comportamentais e autonômicos (SIMON, 1999, WEBB, 1995). Embora os mecanismos autonômicos sejam vitais e eficazes, os mecanismos de termorregulação comportamentais são essenciais para a adequação da T_c (ROMANOVSKY, 2007; NAGASHIMA, 2006). Na regulação comportamental, podemos citar como exemplos o uso de vestimentas, a proteção em abrigos, o uso do fogo e posteriormente da eletricidade para fornecimento de calor (MILTON, 1998). Outras espécies utilizam mecanismos regulatórios comportamentais distintos, tais como: construção de ninhos, alteração da atividade locomotora e ingestão de alimentos, ajustes posturais e busca por temperatura ambiental agradável, (GORDON, 1990) sendo alguns desses comportamentos também adotados por humanos. Nos ratos, os primeiros traços da regulação por mecanismos comportamentais ocorrem logo na primeira semana de nascimento. Estudos utilizando o tratamento com noradrenalina, a qual estimula a termogênese a partir do tecido adiposo marrom em recém-nascidos, verificaram que os mesmos buscaram

locais do ambiente onde a temperatura era mais baixa e assumiram uma posição com exposição maior da superfície corporal, permitindo maior conforto térmico (FARRELL; ALBERTS, 2007). Além disso, esses animais apresentam outras reações como o espalhamento da saliva pelo próprio corpo, para dissipar calor por evaporação (SCHIMMER et al., 2004) e a piloereção, considerada um meio de isolamento térmico no frio.

A regulação autonômica inclui mecanismos que a produzem ou conservam calor e aqueles que promovem a dissipação de calor. Tanto a perda quanto a conservação de calor podem ocorrer de maneira passiva com o ambiente, através da condução, convecção e radiação (NAGASHIMA, 2000). Entre os mecanismos responsáveis pela produção/conservação de calor, além da taxa metabólica basal, podemos citar o aumento da atividade muscular esquelética, conhecida como termogênese por tremor e a termogênese sem tremor, que ocorre em tecidos especializados como o tecido adiposo marrom, utilizando e mobilizando substratos calorígenicos (NAGASHIMA et al., 2000). Esta última é comumente presente em animais recém-nascidos ou de pequeno porte como os ratos. Outro importante mecanismo de conservação de calor é a vasoconstrição cutânea. Estudos verificaram que o resfriamento da pele da cauda aumenta a atividade simpática nesta região, causando constrição do músculo liso vascular, permitindo conservação calor (OWENS et al., 2002; JOHNSON & GILBEY, 1994). Quando a temperatura ambiente (T_a) atinge valores superiores à T_c , os mecanismos pelos quais os animais são capazes de dissipar calor são mediados pelo controle autonômico através de duas formas: pela perda evaporativa, por exemplo, através da sudorese no homem, e pela salivação nos ratos, e pela perda não evaporativa que possibilita a dissipação de calor dos tecidos centrais para a periferia através da vasodilatação cutânea (STOCKS et al., 2004). Em ratos, o aumento do fluxo sanguíneo provocado por diminuição do tônus simpático da artéria da cauda é o principal mecanismo de dissipação de calor (ROMANOVSKY et al., 2002). Em uma T_a constante, a temperatura da pele da cauda do rato é proporcional ao fluxo sanguíneo para a cauda, e os efeitos de uma droga ou agente químico no fluxo sanguíneo para a pele da cauda podem ser analisados pela medida da temperatura da cauda (T_{cauda}) (GORDON et al., 2002; OWENS et al., 2002). No estudo de Gordon e colaboradores (2002), foi constatado que a T_{cauda} do rato aumenta $0,5^\circ\text{C}$, após um aumento da T_a de $21,5^\circ\text{C}$ para $23,0^\circ\text{C}$ e depois para 25°C ; quando a T_a subiu para 27°C , a T_{cauda} do

rato aumentou 2°C. A T_a foi então aumentada para 29°C e 30,5°C e a T_{cauda} do rato subiu mais 1,5°C. Portanto, a T_a na qual o animal se encontra influencia diretamente as respostas efetoras, que mantêm uma situação de equilíbrio dinâmico entre a produção e a dissipação de calor. Uma redução da T_a provocará ativação nos mecanismos de produção de calor, inibindo os mecanismos de perda de calor, resposta que será inversa em situação do aumento da T_a (WEBB, 1995).

Nos animais homeotérmicos, as áreas do sistema nervoso central (SNC) que são ativadas por alterações na T_a e que mediam as respostas termorregulatórias a estas alterações estão localizadas principalmente no hipotálamo (HAMMEL et al., 1963). Os sinais térmicos oriundos de diversas partes do corpo são integrados na área pré-óptica e no hipotálamo anterior (POA/AH), considerados sítios primários na coordenação da regulação da T_c (HAMMEL et al., 1963). Esses centros abrigam neurônios sensíveis ao calor e ao frio, que respondem a flutuações na T_a , sendo que os neurônios sensíveis ao calor são os principais efetores, tanto da produção, quanto da perda de calor. Esses neurônios geram sinais estimulatórios para a perda de calor e sinais inibitórios para a sua produção, através do bloqueio dos neurônios sensíveis ao frio (ROMANOVSKY, 2007; NAGASHIMA, 2006; BOULAND, 2000).

Os sinais térmicos são recebidos pela POA/AH através dos termoreceptores cutâneos, centrais e viscerais. (McCLESKEY, 1997; WEBB, 1995). Os receptores cutâneos, ou termoreceptores periféricos, detectam a temperatura na pele e mucosas oral e urogenital. A maior parte destes receptores é sensível ao frio, o que seria esperado diante da especialização dos receptores centrais nas respostas ao aquecimento (McCLESKEY, 1997). Diante de uma redução da T_a , estes receptores aumentam sua frequência de disparos enviando seus sinais através de fibras mielinizadas (McCLESKEY, 1997). Localizados em menor quantidade e em camadas mais profundas da derme, os receptores sensíveis ao calor aumentam sua atividade em função do aumento da T_a , enviando informações através de fibras não mielinizadas. Com o aumento da atividade dos receptores cutâneos, é gerada aferência que é transmitida ao SNC através do sistema somatosensorial, via trato espinotalâmico convergindo à informação para o córtex passando pelo corno dorsal da medula espinhal e através da formação reticular chega a POA/AH (BOULANT, 1998b). Além dos termoreceptores periféricos, existem termoreceptores centrais, os quais detectam a T_c . Os termoreceptores centrais são populações neuronais localizadas em diversos níveis do sistema nervoso central, incluindo a medula

espinhal, a formação reticular e a própria POA (BOULANT, 2000). Com base no conceito de termorregulação proposto por Romanovsky e colaboradores (2004), sugere-se que as informações geradas por estes termocetores centrais apresentam um perfil politérmico, constituído de diferentes mecanismos tanto para a perda quanto para a produção de calor, apresentando limiares de pontos de referência distintos e independentes. Diante disso, num amplo espectro de variação da temperatura, a T_c representa o resultado de uma transferência ativa e passiva de calor entre o animal e o ambiente (ROMANOVSKY, 2004; 2007).

1.2. REGULAÇÃO DA T_c DURANTE O EXERCÍCIO FÍSICO

Durante a prática do exercício físico, a T_c se eleva proporcionalmente à duração e intensidade da atividade (HARRI et al., 1982). Essa alteração ocorre em função do metabolismo corporal aumentado para suprir as demandas energéticas da musculatura ativa (CASSIS et al., 2002). Para a contração muscular, utiliza-se cerca de 30 % da energia química produzida para a realização do trabalho mecânico, sendo que os outros 70 % restantes são convertidos em calor (BIANCO, 2000). Ao início do exercício físico, denominada fase dinâmica do balanço térmico, ocorre descompasso entre a produção e a dissipação de calor, resultando em aumento exponencial da T_c (LEITE et al., 2007). Neste estágio da atividade física, a perda de calor é dificultada pela vasoconstrição cutânea, mediada pela ativação simpática (LEITE et al. 2006). Tem sido proposto que a produção de calor atua como principal desencadeador do processo de dissipação de calor. Desse modo, a fase estável de balanço térmico do exercício físico tem início a partir do momento no qual é atingido o limiar térmico para vasodilatação cutânea (TT_cV). Nesse momento a perda de calor por dissipação é facilitada e se aproxima da taxa de produção de calor, atenuando o aumento da T_c . Esta por sua vez permanece assim até atingir um limite crítico para o desencadeamento da fadiga (WALTERS et al., 2000).

Em ratos, o principal mecanismo responsável pela dissipação de calor é a vasodilatação da cauda, uma vez que a perda de calor por evaporação através de mecanismos comportamentais, como o espalhamento da saliva pelo corpo, fica impossibilitada durante o exercício físico (WILSON et al., 1978). A vasodilatação da

cauda é responsável pela dissipação de cerca de 25% da produção de calor em repouso e cerca de 40% durante o exercício (YOUNG & DAWSON, 1982). Dessa forma, qualquer alteração que prejudique esse mecanismo pode acelerar o processo de fadiga (WILSON et al., 1978), dificultando os ajustes na T_c .

1.3. FADIGA CENTRAL E HIPERTERMIA

A fadiga provocada pelo exercício físico é um fenômeno multifatorial que envolve a interação entre fatores fisiológicos e psicológicos (BERTUZZI et al., 2004). Pode ser definida como incapacidade de manter a força ou potência requerida ou aumento da dificuldade de manter a taxa de trabalho (FOLEY & FLESHNER, 2008; NIELSEN & NYBO, 2003). A fadiga pode ter origem periférica e/ou central, sendo que a última é causada por falha do SNC em proporcionar impulso eferente adequado para os músculos (LEITE et al., 2013). Ela é considerada como mecanismo de defesa por prevenir ameaças à homeostase através da redução forçada da intensidade da atividade física ou a interrupção da mesma (GANDEVIA, 2001). Os mecanismos fisiológicos propostos como precipitadores da fadiga incluem perturbações metabólicas, cardiovasculares e do SNC, que podem ser associados à elevação da T_c (FOLEY & FLESHNER, 2008; MEEUSEN et al., 2007; FERNSTROM; FERNSTROM, 2006; NIELSEN; NYBO, 2003) . A rápida elevação da T_c que ocorre durante o exercício físico dinâmico representa um fator crítico para a manutenção do desempenho físico prolongado e demonstra ser uma das causas de indução da fadiga (FULLER, et al., 1998). O cérebro é notoriamente vulnerável à hipertermia, e a prevenção da apoptose neuronal demonstra ser uma das razões para o estabelecimento da fadiga (BRINNEL et al., 1987). Muitos estudos mostraram que a manutenção da T_c elevada durante a atividade física limita o desempenho, sendo o tempo de fadiga inversamente relacionado com a T_c no início da atividade física e diretamente relacionado com a taxa de acúmulo de calor (LACERDA et al., 2005; SOARES et al., 2004; GONZÁLES-ALONZO et al., 1999). A duração do exercício em ambientes quentes parece se correlacionar com o estabelecimento de uma T_c crítica capaz de acionar mecanismos de defesa centralmente mediados, prevenindo lesões ou até mesmo morte (FULLER et al., 1998). A capacidade dos músculos

gerarem força não está impedida durante o exercício físico em hipertermia, entretanto, a produção de força sustentável é diminuída (NIELSEN & NYBO, 2003).

O desenvolvimento da fadiga central por hipertermia, causada pela prática do exercício físico prolongado em ambientes quentes, parece envolver o acúmulo e/ou a depleção de neurotransmissores do SNC (NIELSEN & NYBO, 2003). Estudos sugerem que alterações na concentração de aminoácidos plasmáticos estão envolvidos na fadiga central, influenciando a síntese, concentração e liberação de neurotransmissores, particularmente a serotonina (5-HT) no cérebro (DAVIS & BAILEY, 1997). O aumento da concentração de 5-HT está associado com letargia e perda da motivação central para o exercício físico (BLOMSTRAND, 2006). De fato, evidências sugerem que o aumento do conteúdo da 5-HT em importantes áreas do cérebro responsáveis pela termorregulação, como a POA e HA, aumentam a produção de calor precipitando a fadiga (CAPERUTO et al., 2009). Levando-se em conta esta última observação, substâncias que elevam a T_c , tal como no caso da febre induzida por citocinas, podem antecipar a fadiga central através da elevação do conteúdo da 5-HT (CHEUNG et al., 2004). Embora o papel da 5-HT na fadiga central já esteja bem investigado, é provável que outros neurotransmissores sejam capazes de influenciar a fadiga, como a dopamina (DA) (FERNSTROM et al., 2006). Tem sido sugerido que esta monoamina interage com a 5-HT durante o exercício físico, afetando o desempenho físico. (FOLEY et al., 2008). A neurotransmissão da DA está associada com algumas funções fisiológicas que podem modificar o desempenho de corrida, tais como recompensa e motivação (HASEGAWA et al., 2008). O metabolismo central da DA está aumentado durante o exercício físico em animais, e esta elevação central tem sido associada com o atraso na fadiga, apesar de uma maior T_c no ponto de fadiga e um maior armazenamento de calor durante o exercício (BALTHAZAR et al., 2009). Este argumento é reforçado pelo fato de que o aumento da DA na POA inibe os sinais para interrupção do esforço que são decorrentes da sobrecarga térmica (BALTHAZAR et al., 2009; HASEGAWA et al., 2008).

1.4. O SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA E A TERMORREGULAÇÃO DURANTE O EXERCÍCIO FÍSICO

O sistema renina-angiotensina (SRA) corresponde a um complexo sistema hormonal, agindo também localmente em diversos órgãos e tecidos, de maneira endócrina, parácrina e autócrina (JOHNSTON et al., 1993). O papel fundamental do SRA está relacionado à regulação a curto e longo prazo da homeostasia hidroeletrólítica do organismo e do controle da pressão arterial sanguínea (MENARD, 1993). No entendimento clássico do SRA, a substância ativa angiotensina II (ANG II) é a responsável por importantes efeitos fisiológicos, exercendo ações bem definidas como vasoconstrição, estimulação da liberação de aldosterona e vasopressina e indução da sede e do apetite ao sódio (CAREY & SIRAGY, 2003; MCKINLEY et al., 2003; DZAU, 1986). Este octapeptídeo, cujo precursor angiotensinogênio, é produzido principalmente pelo fígado. Na corrente sanguínea, sofre ação da renina, produzida e liberada pelos rins, sendo convertido no decapeptídeo angiotensina I (ANG I). A partir daí, a enzima conversora de angiotensina (ECA), ao nível dos capilares pulmonares, converte a ANG I em ANG II, que através da corrente sanguínea, age sistemicamente sobre vários órgãos alvo que incluem os próprios vasos sanguíneos, córtex-adrenal, rim, coração e cérebro (MCKINLEY et al., 2003). A ANG II também é um neuropeptídeo produzido dentro do sistema nervoso central, onde atua como neurotransmissor ou modulador da neurotransmissão e da excitabilidade dos neurônios (MCKINLEY et al., 2003). Estudos anteriores demonstraram que a ANG II exerce efeito termorregulador capaz de induzir resposta hipotérmica caracterizada por aumento da dissipação de calor e redução da taxa de consumo de oxigênio (CASSIS et al., 2002; FREGLY & ROWLAND 1996; WILSON & FREGLY 1985 a, b).

O octapeptídeo ANG II exerce seus principais efeitos através dos receptores transmembrana de angiotensina tipo 1 (AT1) e tipo 2 (AT2). Os receptores AT1 estão presentes em maior quantidade nos vasos sanguíneos, córtex-adrenal, rins, fígado e cérebro enquanto que os receptores AT2 são encontrados principalmente no tecido mesenquimal, medula adrenal, útero, folículos ovarianos e no cérebro (OHINATA et al., 2008; ROULSTON et al., 2003; DE GASPARO et al., 2000; ZHUO et al., 1995). Modelos utilizando o bloqueio ou a estimulação em tecidos específicos

têm demonstrado a influência dos receptores AT1 na manutenção da pressão arterial e regulação do balanço hidroeletrólítico. Periféricamente, é bem conhecido que estes receptores estão associados à ação vasoconstritora direta, à estimulação da síntese e liberação de aldosterona pelo córtex-adrenal, que induz a reabsorção de sódio e conseqüentemente de água pelos túbulos renais, e também à hipertrofia da musculatura lisa vascular e cardíaca (THOMAS; MENDELSON, 2003). Tem-se assumido que os receptores AT2 agem neutralizando essas ações (HEIN et al., 1995; ICHIKI et al., 1995). Acredita-se que a vasodilatação mediada pelo receptor AT2 é um fenômeno endotélio dependente, envolvendo o receptor de bradiquinina do tipo 2, óxido nítrico e guanosina 3', 5' monofosfato cíclico (JOEP, 2006). Em alguns estudos foi reportado que o relaxamento mediado pelo receptor AT2 na resistência de artérias isoladas, contribui para diminuição da pressão arterial (LI & WIDDOP, 2004). No cérebro, os receptores AT1 e AT2 são encontrados em várias regiões, como o hipotálamo, a POA, a lâmina terminal, a medula ventrolateral e o núcleo do trato solitário. Essas regiões são conhecidas pelas funções de regulação do sistema cardiovascular, balanço hidroeletrólítico e termorregulação (PACÁK & PALKOVITS, 2001). Li e colaboradores (2003) verificaram que a injeção intracerebroventricular (icv) de ANG II provoca aumento maior da pressão arterial em ratos knock-out para o gene do receptor AT2. A injeção icv de ANG II combinada com PD123319 (PD; antagonista do receptor AT2) provoca nos ratos controle resposta pressórica ainda maior do que a provocada somente pela injeção de ANG II sozinha. Estes resultados apoiam o efeito depressor da estimulação central dos receptores AT2 na pressão arterial, provavelmente via inibição simpática.

Na última década, muitos estudos investigaram o papel da ANG II como um hormônio regulador da T_c . Em ratos, há evidências que apoiam a hipótese de que ANG II é um neurotransmissor central envolvido em mecanismos de produção e dissipação de calor (LEITE et al., 2006). Na situação de repouso, a administração sistêmica de ANG II induz resposta hipotérmica de natureza dose-dependente manifestada através da diminuição da taxa metabólica e da vasodilatação da cauda (FREGLY; ROWLAND, 1996). Respostas similares foram obtidas após a injeção icv de ANG II em ratos, sugerindo participação do SRA centralmente no controle da T_c (WILSON; FREGLY, 1985). Esta resposta hipotérmica induzida pela ANG II é abolida pelo tratamento com inibidores do SRA, como inibidores da ECA e antagonistas do receptor AT1 (FREGLY; ROWLAND, 1992).

Durante o exercício físico, as concentrações plasmáticas de ANG II se encontram elevadas, fato atribuído ao aumento da concentração da renina circulante, que se eleva em função do aumento da atividade simpática renal (TIDGREN et al., 1991). A elevação da intensidade do exercício físico dinâmico provoca aumento progressivo da concentração periférica da ANG II (TIDGREN et al., 1991). Estudos tem verificado que durante o exercício físico a ANG II desempenha importante papel no controle da pressão arterial e redistribuição do débito cardíaco através da ação vasoconstritora direta e/ou pelo aumento da atividade simpática (STEBBINS; SYMONS, 1995).

Recentemente, foi demonstrado em ratos que o bloqueio icv, durante o exercício físico, do receptor AT1 para ANG II, utilizando losartan, induz efeitos termorregulatórios marcantes. Verificou-se aumento significativo das taxas de aquecimento corporal e acúmulo de calor, responsáveis por indução rápida de hipertermia e aumento do TT_{cV} (LEITE et al., 2006). O tratamento com losartan também reduz o desempenho físico, que mostrou-se intimamente associado com a elevada taxa de aquecimento corporal. Além disso, o bloqueio dos receptores AT1 centrais resulta em aumento da taxa metabólica e redução da eficiência mecânica durante o exercício físico. Tais efeitos do losartan sobre o balanço térmico durante o exercício físico estão associados com a ativação de vias serotoninérgicas na área pré-óptica e no hipotálamo (LEITE et al., 2010). Os achados evidenciaram que o bloqueio do sistema angiotensinérgico central resulta em aumento do conteúdo de serotonina nesses centros termorregulatórios, diretamente associado com hipertermia e elevada taxa de aquecimento corporal, e indiretamente relacionado com a redução do desempenho físico. Todos esses dados corroboram que a transmissão angiotensinérgica central tem efeitos importantes sobre a termorregulação durante o exercício físico, ao modular a dissipação de calor através da vasodilatação cutânea, assim como a produção deste, protegendo o cérebro contra a hipertermia excessiva e contribuindo para melhora do desempenho físico (LEITE et al., 2010, 2009, 2007, 2006).

Em contraste com o receptor AT1, o papel fisiológico desempenhado no cérebro pelo receptor AT2 durante o balanço térmico e o desempenho físico ainda é pouco conhecido. Alguns estudos reportaram ações termorregulatórias e no comportamento exploratório de ratos modificados geneticamente com deficiência no receptor AT2 (HEIN et al., 1995; ICHIKI et al., 1995). Estes animais apresentaram

menor T_c no repouso, atenuação do comportamento exploratório e redução da movimentação espontânea. Por outro lado, o efeito na T_c de repouso deste mesmo modelo animal durante o estresse induzido pela manipulação (através da mudança de gaiolas) mostrou-se significativamente maior em relação ao grupo controle durante 50 minutos posteriores à intervenção, sem alterar significativamente o padrão de atividade física entre os grupos (WATANABE, 1999). Esses achados sugerem que a ANG II endógena atua no controle termorregulatório central via receptor AT₂. Em outro estudo verificou-se que a administração central de antagonista do receptor AT₂, atenuou a resposta hipertérmica febril induzida pela interleucina-1 (IL-1) (WATANABE et al., 1997). Esses dados demonstram que o receptor AT₂ no cérebro pode modular a hipertermia induzida por estresse imunológico. Com base nesses achados, sugere-se que a ANG II via receptores AT₂ centrais poderia desempenhar papel importante nas vias termorregulatórias, modulando o balanço térmico e influenciando o desempenho físico durante o exercício em ratos.

2. OBJETIVOS

Objetivo Geral

Verificar a importância dos receptores AT2 do SNC, no balanço térmico e no desempenho durante o exercício físico em ratos.

Objetivos Específicos

Estudar o efeito do bloqueio do receptor AT2 através da injeção intracerebroventricular de PD 123319 sobre:

- As respostas termorregulatórias: Temperatura corporal interna (T_c), temperatura da cauda (T_{cauda}), taxa de aquecimento corporal (BHR), taxa de acúmulo de calor (HSR) e o limiar térmico para vasodilatação da cauda (TT_{cV}) em ratos submetidos ao exercício submáximo em esteira;

- O tempo total de exercício até a fadiga (TTE), o trabalho (W) e a relação entre o balanço de calor e a determinação da fadiga em ratos submetidos ao exercício submáximo em esteira até a fadiga.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Aprovação Ética

Todos os procedimentos foram submetidos à Comissão de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Juiz de Fora (CEEAA) e foram executados de acordo com o regulamento da Comissão (010/2012).

3.2 Amostra

Foram utilizados 15 ratos Wistar adultos, com 60 dias de vida e peso corporal entre 240-350g, provenientes do Centro de Biologia da Reprodução da Universidade Federal de Juiz de Fora (CBR/UFJF). Durante os experimentos, os animais foram mantidos em gaiolas individuais, com fotoperíodo de 12h luz/12h escuro, sob T_a de $23 \pm 2^\circ \text{C}$, tendo livre acesso à ração para ratos (Nuvilab) e água.

3.3 Familiarização ao Exercício Físico

Na primeira semana, os animais realizaram protocolo de familiarização ao exercício físico em esteira motorizada para roedores (Etabio, Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil) durante 5 dias consecutivos. O protocolo consistiu em 5 minutos de repouso na esteira, seguidos de 5 minutos de exercício físico a uma velocidade de $10 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$ e 5% de inclinação. Este procedimento foi realizado visando adaptar o animal ao local do experimento e à direção da corrida, prevenindo o estresse diante de uma nova condição experimental. A estimulação elétrica utilizada foi estabelecida de acordo com a tolerância de cada animal, a ponto de causar um desconforto, sem causar dor, que o fizesse preferir permanecer na esteira ao invés da grade de estimulação elétrica (American Physiological Society, 2006).

3.4 Procedimentos Cirúrgicos

3.4.1 Canulação Central

Após o período de familiarização, os animais foram anestesiados com mistura de ketamina (72,0 mg/kg de peso corporal) e xilazina (8,0 mg/kg de peso corporal), via intraperitoneal (ip), para realização da canulação do ventrículo cerebral lateral direito (VLD). Em seguida, foram submetidos à tricotomia e assepsia da região superior da cabeça, onde foi realizada incisão longitudinal da pele e do tecido subcutâneo. Foi aplicado localmente dose de lidocaína (2 %, 0,1 mL, anestésico local, Syntec) para analgesia e afastamento do periósteo.

A seguir, o animal foi adaptado ao estereotáxico para animais de pequeno porte (EF331, Insight, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil). A craniotomia foi realizada com o auxílio de broca odontológica (7 a 8 mm) para a implantação das cânulas guia de aço inoxidável. A cânula (16 mm de comprimento x 0,7 mm de diâmetro interno) foi implantada no VLD obedecendo às coordenadas estereotáxicas estabelecidas pelo atlas de De Groot (1959) cujos parâmetros são: -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). Dois parafusos, também ancorados ao crânio, foram utilizados para fixação das cânulas no crânio. A cânula guia foi conectada a um tubo de polietileno (PE 50) adaptado a manômetro contendo solução salina. O posicionamento correto da cânula na área desejada foi observado pelo deslocamento da coluna de líquido do manômetro (Antunes-Rodrigues & McCann, 1970). A cânula icv foi ancorada aos parafusos e fixada à calota craniana com cimento odontológico autopolimerizante. Um capuz de polietileno (PE 50) foi conectado as cânulas para impedir sua obstrução.

3.4.2 Implante do Sensor de Temperatura

Durante o mesmo procedimento cirúrgico de canulação central, foi realizado implante do sensor de temperatura (G2 E-Mitter, Mini Mitter, Sun River, OR, EUA) na cavidade ip. Após assepsia e tricotomia da região abdominal, o sensor de temperatura foi inserido na cavidade ip, através das camadas musculares, por meio de pequena incisão na linha Alba de aproximadamente 2 cm. O peritônio e a pele da região foram adequadamente suturados após o implante.

Ao final das cirurgias os animais receberam dose de antibiótico (48.000 U - Pentabiótico Veterinário Pequeno Porte, Fort Dodge) no volume de 0,2 mL/kg via intramuscular (logo após os procedimentos cirúrgicos e outra dose passados 5 dias das cirurgias) e 0,1 mg/Kg de analgésico/anti-inflamatório subcutâneo (Banamine injetável, Schering-Plough) durante 3 dias consecutivos. Foi permitido aos animais um período de recuperação de no mínimo cinco dias antes de serem submetidos aos experimentos.

3.5 Temperatura Ambiente, Corporal e da Cauda

A T_c foi registrada por telemetria utilizando o sensor de temperatura intraperitoneal previamente calibrado. Para determinação da T_{cauda} , um termistor de cauda (THR-140; Instrutherm, São Paulo, Brasil) foi fixado sobre a pele com esparadrapo, cerca de 10 mm de distância da base da cauda. Este termistor foi conectado a um leitor digital (THR-140, printing thermometer, Instrutherm, São Paulo, Brasil) para recepção dos dados. A T_a dentro da esteira foi estabelecida por meio de termômetro digital (THR-140; Instrutherm, São Paulo, Brasil) fixado dentro do local.

3.6 Exercício Físico

Durante os experimentos, os animais foram submetidos ao exercício submáximo em esteira à velocidade constante de 18 m/min e 5% de inclinação. Esses parâmetros correspondem a consumo de oxigênio de $\cong 66\%$ do VO_2 máx (BROOKS & WHITE, 1978; HUSSAIN et al., 2001; LEITE et al., 2006, 2007, 2010). O ponto de fadiga foi definido como o ponto no qual o animal não mais conseguiu manter o ritmo da esteira por mais de 10 segundos (LACERDA et al., 2005; FULLER et al., 1998), adotando-se o mesmo critério de estimulação elétrica que da fase de familiarização. Os experimentos foram realizados entre 10:00 e 12:00 horas.

3.6.1 Protocolo Experimental

No dia do experimento, após pesagem do animal, uma agulha (22 G) foi introduzida na cânula guia e conectada a uma seringa Hamilton para infusão das drogas por meio de um tubo de polietileno PE 10. Simultaneamente, o termistor para registro da T_{cauda} foi fixado ao animal. Os animais foram escolhidos aleatoriamente para receber SAL e/ou PD 123319. Todos os experimentos foram realizados utilizando o método duplo-cego. O animal era, então, colocado no local do experimento para realização do exercício físico até a fadiga, e posteriormente para a coleta dos dados de repouso, durante um período de 40 minutos.

Inicialmente foi realizado protocolo de exercício físico, e antes do início do registro dos dados, 2,0 μL de 0,15 M NaCl (SAL, $n = 7$) ou 2,0 μL de PD 123319 (Sigma Aldrich; $n = 7$ (5 μg , 10 μg e 20 μg)) foram administradas no VLD. Cada animal realizou 4 experimentos e após a realização destes protocolos foi feito teste para determinação de uma curva dose-resposta para a droga. A dose de PD 123319 selecionada foi a de 10 μg , por apresentar diferença mais significativa na T_{cauda} .

Após a determinação da dose de 10 μg como mais efetiva sob o parâmetro térmico T_{cauda} , foi realizado protocolo de repouso com outros 8 animais. Cada animal realizou 2 experimentos, onde permaneceram por 40 minutos em repouso na esteira, após a administração de 2,0 μL de 0,15 M NaCl (SAL, $n = 8$) ou 2,0 μL de

PD 123319 (Sigma Aldrich; n = 8 (10 μ g)). O tempo de infusão foi de 1 minuto para evitar elevação súbita da pressão hidrostática local. Foi determinado um intervalo de 48 horas entre a realização dos experimentos.

As temperaturas foram registradas durante o repouso, e continuamente durante todo o período do exercício, a cada minuto. A T_c e a T_{cauda} foram utilizadas para determinar TT_{cV} , isto é, a T_c que correspondeu ao momento no qual a T_{cauda} claramente começou a se elevar (vasodilatação).

3.7 Cálculos

A partir dos dados colhidos foram determinados:

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

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

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

Acúmulo de calor (HS; cal) = $(\Delta T_c) \cdot m \cdot c$, onde m = massa corporal em gramas; e c = calor específico dos tecidos do animal (0.826 cal.g⁻¹.°C⁻¹) (Gordon, 1993).

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

3.8 Análise Estatística

Os dados foram apresentados como Média \pm E.P.M. As diferenças entre os tratamentos e o efeito do tempo foram avaliadas utilizando a análise de variância (ANOVA), seguido do teste de Newman-Keuls. Também foram comparados os

dados pelo teste T de Student pareado. As correlações entre as variáveis termorregulatórias e do exercício foram definidas usando o coeficiente de correlação de Pearson. O nível de significância foi fixado em $p < 0,05$.

4. RESULTADOS

Efeito do bloqueio dos receptores AT2 para ANG II através da injeção icv de 2 μ L de PD 123319 (10 μ g, n = 8) ou de 0,15 M NaCl (SAL, n = 8) na T_c durante o repouso.

O registro da T_c durante o período de 40 minutos de repouso não mostrou variação significativa tanto após o tratamento com SAL (n = 8) quanto após o tratamento com PD 123319 (n = 8). A tabela 1 apresenta os valores da T_c imediatamente antes e após a injeção icv de SAL e/ou PD 123319 durante este período. Nota-se que tanto após a administração icv de PD 123319 quanto de SAL, os animais mantiveram sua T_c constante ao longo dos 40 minutos de experimento.

	PD			SAL		
	Basal	20 min	40 min	Basal	20 min	40 min
T_c ($^{\circ}$ C)	37,89 \pm 0,06	37,76 \pm 0,12	37,47 \pm 0,22	37,91 \pm 0,02	37,71 \pm 0,07	37,28 \pm 0,22
Delta T_c ($^{\circ}$ C)	0,01 \pm 0,04	0,13 \pm 0,40	0,41 \pm 0,65	0,02 \pm 0,19	0,20 \pm 0,22	0,63 \pm 0,59

Tabela 1. Efeito da injeção icv de 2 μ L de PD 123319 (10 μ g, n = 8) ou 0,15 M NaCl (SAL, n = 8) na T_c durante o repouso. Dados expressos como média \pm EPM. Os animais foram controles deles mesmos.

Efeito do bloqueio dos receptores AT2 para ANG II através da injeção icv de 2 μ L de diferentes concentrações de PD (5 μ g, n = 7; 10 μ g, n = 7; 20 μ g, n = 7) ou de 0,15 M NaCl (SAL, n = 7) sobre a variação da T_{cauda} no ponto de fadiga.

O gráfico 1 representa a variação da T_{cauda} no ponto de fadiga após a injeção icv de SAL e/ou de diferentes concentrações de PD (5 μ g, n = 7; 10 μ g, n = 7; 20 μ g, n = 7). O efeito da injeção icv de PD sobre a variação da T_{cauda} no ponto de fadiga apresentou um padrão crescente de elevação nas concentrações (de 5 μ g e 10 μ g). Entretanto, observou-se um ponto de inflexão da curva após tratamento com 20 μ g de PD. Como pode ser observado no gráfico, o perfil apresenta-se dose dependente até a dose de 10 μ g ($r=0,969$, $p<0,01$), sendo que o maior aumento na variação da T_{cauda} no ponto de fadiga foi verificado com a dose de 10 μ g (SAL: $3,10 \pm 0,57$ °C; 5 μ g: $3,63 \pm 0,26$ °C; 10 μ g: $4,87 \pm 0,44$ °C; 20 μ g: $4,04 \pm 0,43$ °C). Portanto, a dose de 10 μ g foi utilizada no estudo.

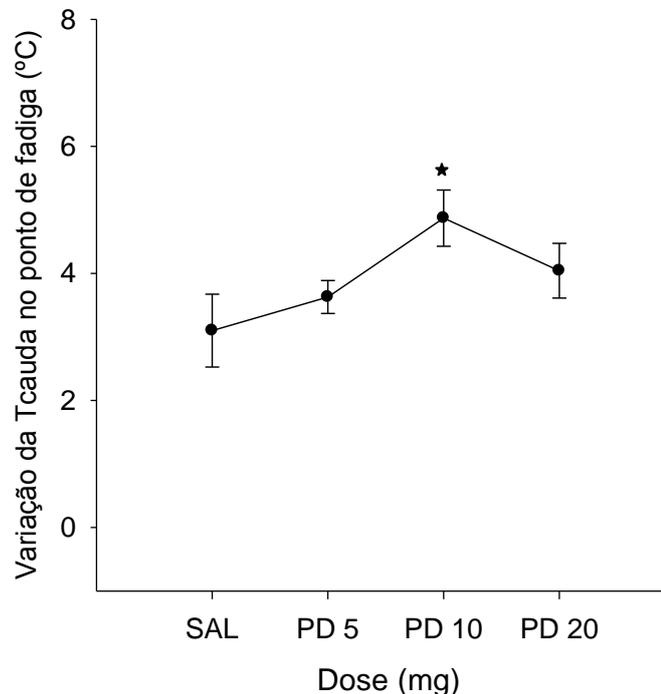


Gráfico 1. Efeito da injeção icv de 2 μ L de PD (5 μ g, n = 7; 10 μ g, n = 7; 20 μ g, n = 7) ou 0,15 M NaCl (SAL, n = 7) sobre a variação da T_{cauda} no ponto de fadiga. Dados expressos como média \pm EPM. * $p < 0.05$ comparado com grupo SAL, PD 5 μ g e PD 20 μ g.

Efeito do bloqueio dos receptores AT2 para ANG II através da injeção icv de 2 μ L de PD (10 μ g, n = 7) ou de 0,15 M NaCl (SAL, n = 7) sobre o TTE e sobre o W durante o exercício até a fadiga.

O gráfico 2 representa as diferenças entre o TTE e o W entre os animais tratados com SAL e PD. Observa-se que a administração icv de PD promoveu aumento de 17 % no TTE durante o exercício quando comparado com os controles ($18 \pm 1,8$ min, PD vs. $15 \pm 2,1$ min, SAL, $p < 0,01$). Ao comparar os valores de W, nota-se que houve também aumento significativo, isto é, de 20 %, quando comparado com os controles ($4,62 \pm 0,34$ kgm, PD vs. $3,74 \pm 0,4$ kgm, SAL, $p < 0,01$).

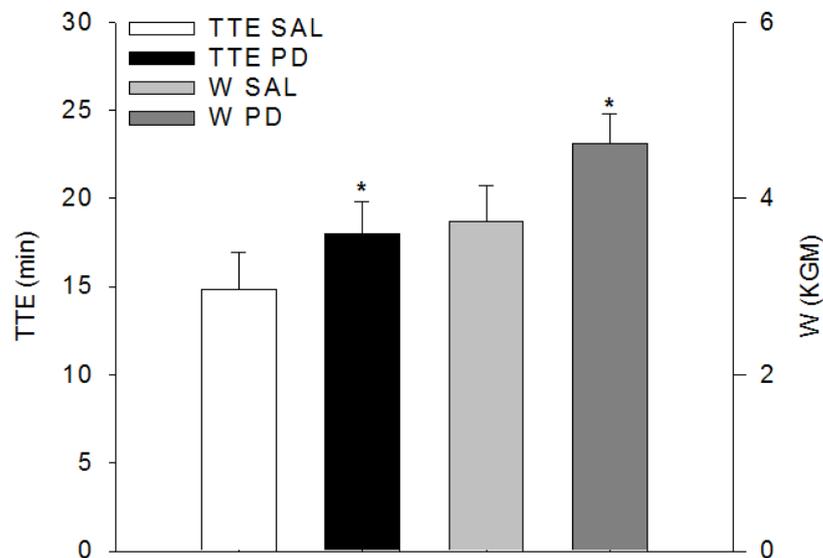


Gráfico 2. Efeito da injeção icv de 2 μ L de PD (10 μ g, n = 7) ou de 0,15 M NaCl (SAL, n = 7) sobre o TTE e sobre o W durante o exercício (18 m/min^{-1} e 5% de inclinação) até a fadiga. Dados expressos como média \pm EPM. * $p < 0,05$ comparado com grupo SAL.

Efeito do bloqueio dos receptores AT2 para ANG II através da injeção icv de 2 μ L de PD (10 μ g, n = 7) ou de 0,15 M NaCl (SAL, n = 7) na T_c e na T_{cauda} durante o exercício até a fadiga.

O gráfico 3A representa a variação da T_c durante o exercício físico até a fadiga em animais tratados com SAL e PD. Tanto nos animais tratados com SAL quanto nos tratados com PD foi observado aumento rápido e progressivo da T_c . A variação da T_c apresentou elevação significativamente maior do valor basal nos minutos 2 e 3 para os grupos PD e SAL, respectivamente ($0,22 \pm 0,07$ °C, PD; $0,27 \pm 0,05$ °C, SAL, $p < 0,05$). No decorrer do experimento, não foram encontradas diferenças entre os tratamentos durante qualquer período do exercício físico. Entretanto, o grupo SAL interrompeu o teste aos 15 minutos, enquanto os animais do grupo PD mantiveram o exercício até o 18º minuto, apresentando, assim, maior variação da T_c no ponto de fadiga. ($2,37 \pm 0,24$ °C, PD; $1,73 \pm 0,21$ °C, SAL, $p < 0,05$).

Em relação à T_{cauda} , comparando a curva de variação no gráfico 3B é possível notar a vasoconstrição provocada inicialmente pelo exercício físico, visualizada através da queda da T_{cauda} , que atingiu o nadir no 3º minuto de exercício para ambos os grupos ($- 1,29 \pm 0,17$ °C, PD; $- 1,29 \pm 0,26$ °C, SAL). Esta vasoconstrição foi seguida de elevação gradativa do fluxo sanguíneo para a cauda constatada pela elevação da T_{cauda} . Isto indica que mecanismos de perda de calor foram ativados. A vasodilatação induzida pelo exercício foi constatada no 6º minuto de exercício para os tratados com PD ($1,03 \pm 0,49$ °C, PD, $p < 0,05$), enquanto que para os tratados com SAL a diferença foi aparente a partir do 7º minuto de exercício ($1,23 \pm 0,63$ °C, SAL, $p < 0,05$). Em adendo, após os 13 primeiros minutos de exercício, a variação da T_{cauda} foi superior nos ratos tratados com PD até a fadiga ($4,87 \pm 0,44$ °C, PD; $3,10 \pm 0,57$ °C, SAL, $p < 0,05$).

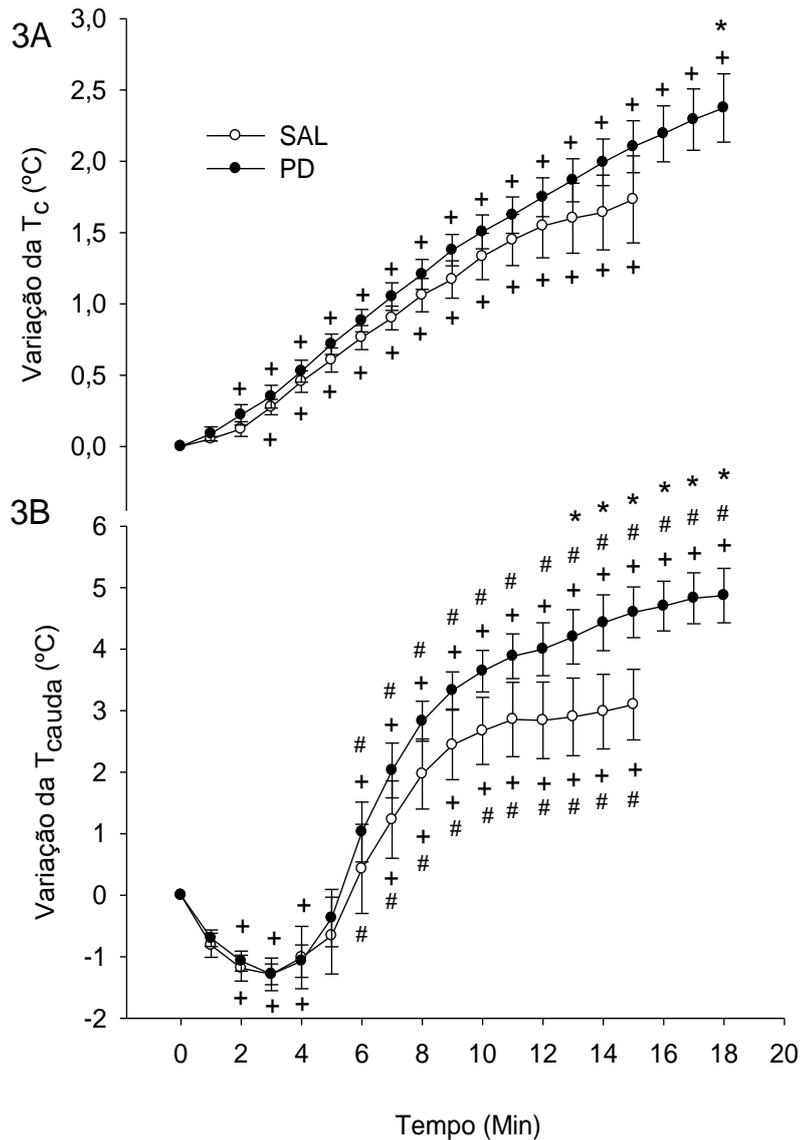


Gráfico 3. Efeito da injeção ivc de 2 μ L de PD (10 μ g) ou 0,15 M NaCl (SAL)(n=7) na variação da T_c (gráfico 3A) e variação da T_{cauda} (gráfico 3B). Valores foram expressos como média \pm EPM. *p < 0,05 comparado com o grupo SAL. +p < 0,05 comparado com valor basal correspondente. #p < 0,05 comparado com nadir correspondente. Valor basal T_c (36,99 \pm 0,06 $^{\circ}$ C, PD; 36,90 \pm 0,07 $^{\circ}$ C, SAL) e valor basal T_{cauda} (27,24 \pm 0,61 $^{\circ}$ C, PD; 28,27 \pm 0,58 $^{\circ}$ C, SAL). Valor T_c no ponto de fadiga (39,36 \pm 0,22 $^{\circ}$ C, PD; 38,63 \pm 0,37 $^{\circ}$ C, SAL, p<0,05) e valor T_{cauda} no ponto de fadiga (32,11 \pm 0,64 $^{\circ}$ C, PD; 31,92 \pm 0,55 $^{\circ}$ C, SAL, p<0,05)

Correlação entre T_{cauda} no ponto de fadiga e TTE.

Visando verificar a influência da dissipação de calor através da vasodilatação da cauda sobre o desempenho físico, o gráfico 4 demonstra que a T_{cauda} no ponto de fadiga correlacionou-se diretamente com o TTE ($r = 0,871$, $p < 0,01$), evidenciando que o aumento da T_{cauda} nos animais PD contribui diretamente para seu melhor desempenho físico.

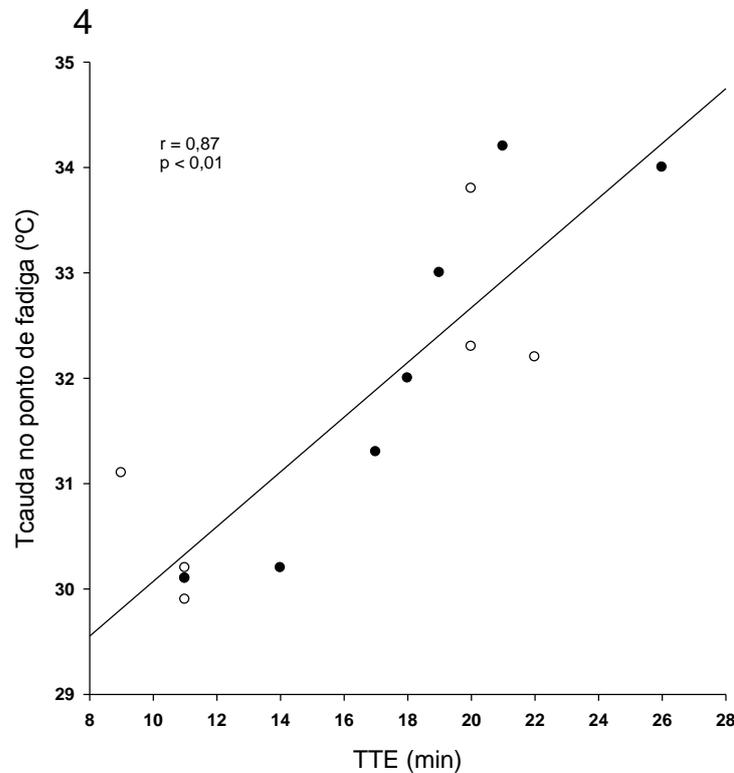


Gráfico 4. Correlação entre TTE e T_{cauda} no ponto de fadiga durante o exercício em ratos tratados com 2 μ L de PD (10 μ g, n=7; círculo sólido) ou 2 μ L de 0,15 mol/l Sal (n=7; círculo aberto).

Efeito do bloqueio dos receptores AT2 para ANG II através da injeção icv de 2 μ L de PD (10 μ g, n = 7) ou de 0,15 M NaCl (SAL, n = 7) sobre a BHR e a HSR durante o exercício até a fadiga.

Com o intuito de comparar os efeitos térmicos em ambos os tratamentos, foram calculados a BHR e a HSR. Os valores de cada tratamento estão ilustrados nos gráficos 5.

Não foram observadas diferenças significativas sobre a BHR e a HSR quando comparados os grupos SAL e PD. Os valores foram: BHR: $0,14 \pm 0,01$ $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, PD vs. $0,13 \pm 0,02$ $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, SAL; HRS: $33,75 \pm 1,37$ $\text{cal}\cdot\text{min}^{-1}$, PD vs. $30,9 \pm 2,82$ $\text{cal}\cdot\text{min}^{-1}$, SAL.

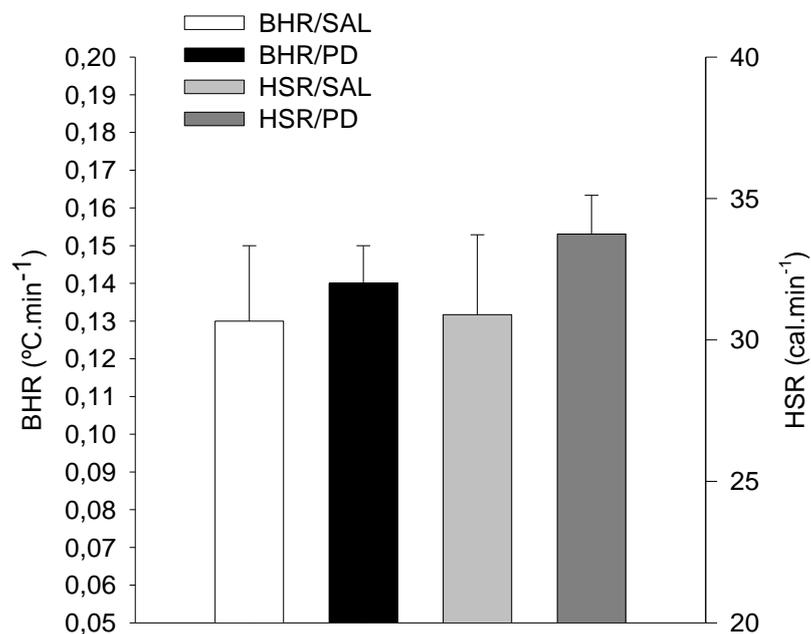


Gráfico 5. Efeito da injeção icv de 2 μ L de PD (10 μ g, n = 7) ou de 0,15 M NaCl (SAL, n = 7) sobre a BHR e a HSR durante o exercício ($18 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$ e 5% de inclinação) até a fadiga. Dados expressos como média \pm EPM.

Efeito do bloqueio dos receptores AT2 para ANG II através da injeção icv de 2 μ L de PD (10 μ g, n = 7) ou de 0,15 M NaCl (SAL, n = 7) sobre o TT_{cV} durante o exercício até a fadiga.

Para verificar se o tratamento com PD afetaria os mecanismos de dissipação de calor durante o exercício através da vasodilatação da cauda, o TT_{cV} foi calculado para ambos os tratamentos. O resultado está ilustrado no gráfico 6. Não foram observadas diferenças entre os grupos PD e SAL. Os valores foram ($37,75 \pm 0,12$ °C, PD vs. $37,61 \pm 0,15$ °C, SAL).

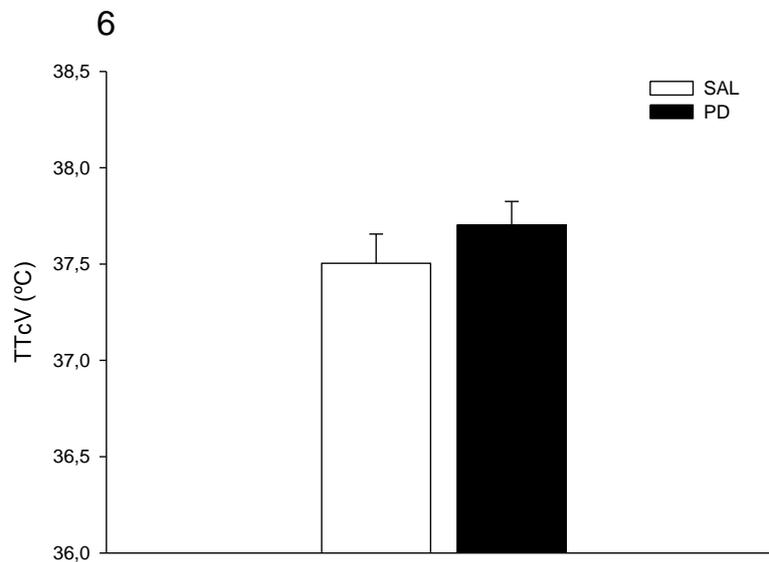


Gráfico 6. Efeito da injeção icv de 2 μ L de PD (10 μ g, n = 7) ou de 0,15 M NaCl (SAL, n = 7) sobre o TT_{cV} durante o exercício (18 m/min^{-1} e 5% de inclinação) até a fadiga. Dados expressos como média \pm EPM.

6. DISCUSSÃO

No presente estudo, o bloqueio do receptor AT2 para ANG II através da injeção icv de PD 123319 produziu maior variação da T_{cauda} que se correlacionou positivamente com o aumento do TTE. Esses dados trazem novas evidências de que vias centrais mediadas pela angiotensina II estão envolvidas no controle termorregulatório, especialmente na regulação dos mecanismos responsáveis pela dissipação de calor, possibilitando aumento acentuado da taxa de trabalho e maior tolerância ao exercício físico.

Alguns estudos têm sugerido o envolvimento do SRA com a resposta ao estresse (WAN et al., 1996; YANG et al., 1996). A concentração de ANG II circulante e nos tecidos, como cérebro, coração e glândulas adrenais (WAN et al., 1996), apresenta-se significativamente elevada tanto em resposta ao estresse crônico quanto ao agudo (YANG et al., 1996). Além disso, a ANG II não age somente como um hormônio do estresse em vários órgãos periféricos, mas também como um fator que desencadeia a resposta sistêmica ao estresse a partir do SNC para os tecidos periféricos. Dessa forma, o SRA é um sistema de resposta ao estresse similar ao sistema hipotálamo-pituitária-adrenal e o sistema simpático-adrenal (YANG et al., 1996). Foi demonstrado, que durante o exercício físico a ANG II contribui para o controle da pressão arterial e redistribuição do débito cardíaco através da ação vasoconstritora direta e/ou pelo aumento da atividade simpática (STEBBINS; SYMONS, 1995).

Estudos anteriores evidenciaram que o SRA central exerce papel na termorregulação durante o exercício físico (FREGLY; ROWLAND, 1992; WILSON; FREGLY, 1985). Estes estudos mostraram que a administração central e periférica de ANG II em repouso induz resposta hipotérmica caracterizada pelo aumento da dissipação de calor através da vasodilatação da cauda, da queda da taxa metabólica e da T_c . Esta resposta evitaria o acúmulo de calor exagerado e a hipertermia excessiva, mantendo a T_c dentro dos padrões normais (GROBE et al., 2004). Os dados do presente estudo mostram que durante o exercício físico, uma situação na qual há aumento da produção e acúmulo de calor, o bloqueio do receptor AT2 para ANG II utilizando o PD 123319 aumentou a dissipação de calor, por meio da

vasodilatação da cauda, demonstrada pela elevação da variação da T_{cauda} (Gráfico 3B). Esses resultados apoiam a hipótese de que a ANG II é responsável pelo reajuste dos mecanismos que desencadeiam as respostas centrais de perda de calor durante o exercício físico (LEITE et al. 2006).

A concentração de 10 μg de PD 123319 foi estabelecida por induzir diferença mais significativa na T_{cauda} no ponto de fadiga (gráfico 1). A ação do PD 123319 durante 40 minutos de repouso não manifestou nenhuma alteração sobre a T_c , demonstrando que os efeitos nos parâmetros térmicos encontrados durante o exercício físico ocorreram em função da interação droga-exercício (tabela 1). Embora no presente caso o bloqueio do receptor AT2 não apresentou redução da T_c , observou-se queda na T_c de repouso de ratos modificados geneticamente com deficiência no receptor AT2 (HEIN et al., 1995; ICHIKI et al., 1995). É possível que a explicação esteja relacionada ao fato de que a longo prazo, a ausência destes receptores possam gerar adaptações, provocando alterações que influenciem no balanço térmico. Portanto, essa diferença entre os dois modelos pode ser atribuída ao fato de que no presente estudo foi realizada administração icv de PD 123319 para bloqueio do receptor AT2, enquanto nos estudos citados foram utilizados ratos knock-out para o receptor AT2. Este achado se assemelha metodologicamente aos resultados encontrados por Li e colaboradores (2003), que observaram diferentes respostas na pressão arterial, diante do bloqueio farmacológico do receptor AT2 (PD 123319; antagonista) e na mutação (Knock-out para o gene AT2), demonstrando que a resposta pressórica desencadeada pela injeção icv de ANG II é superior em animais tratados com PD do que em relação a animais knock-out para o gene AT2.

O aumento da T_c que ocorre em resposta ao exercício contínuo é resultado do desequilíbrio temporário entre as taxas de produção e de dissipação de calor na fase inicial da atividade (GLEESON, 1998; JESSEN, 1987; WEBB, 1995). A vasoconstrição mediada pelo sistema nervoso simpático durante esse período do exercício (HARTLEY et al., 1972; McALLISTER, 1995) dificulta perda de calor. Consequentemente a T_c aumenta rapidamente até atingir o TT_cV , o que facilita a dissipação de calor. A partir daí, a T_c eleva-se de forma menos intensa e assim permanece até a fadiga. Esse perfil dinâmico da alteração da T_c durante o exercício foi observado no presente estudo tanto nos animais PD quanto nos animais SAL (gráfico 3A). Durante os primeiros 9 minutos de atividade a T_c aumentou

intensamente e em seguida estabilizou em um nível elevado. Esse momento de transição ocorreu posteriormente ao aumento da T_{cauda} , aproximadamente no 7º minuto do exercício (Gráfico 3B), o que indica que o limiar de vasodilatação periférica (TT_cV) foi alcançado, aumentando a quantidade de calor dissipado. O equilíbrio entre a produção de calor e a dissipação de calor resultou na estabilização da T_c .

Levando em consideração que o aumento da dissipação de calor durante o exercício físico atenuaria a hipertermia durante a atividade física (LEITE et al. 2009), a utilização do PD 123319 no SNC poderia acarretar em aumento do desempenho físico. Esta hipótese está de acordo com os resultados obtidos no presente estudo. Estes resultados mostraram que o bloqueio central do receptor AT2 leva a maior desempenho durante o exercício físico (gráfico 2), demonstrada pela correlação positiva entre T_{cauda} no ponto de fadiga e TTE (gráfico 4). Entretanto, apesar de se ter verificado uma melhora do mecanismo de dissipação de calor a partir do 13º minuto do teste, o tratamento com PD 123319 manteve o aumento da T_c similar ao grupo controle (gráfico 3A).

Tal achado pode ser justificado pelo fato de que estímulos não térmicos, incluindo o aumento da pressão arterial durante o exercício dinâmico também interferiram na dissipação de calor (PIRES et al, 2007; ROWELL et al, 1973). No estudo de Pires e colaboradores (2007), a estimulação colinérgica central através da injeção icv de fisostigmina aumentou a pressão arterial e, na sequência, a T_{cauda} dos ratos em exercício físico. Dessa forma, conclui-se que a dissipação de calor tenha sido modulada principalmente por estímulos não termorregulatórios. Em adendo, o aumento da T_{cauda} induzido pela fisostigmina correlacionou-se com o aumento da pressão arterial diastólica em repouso e durante o exercício. Além disso, é provável que os vasos da cauda do rato não estivessem dilatados em função da pressão diastólica aumentada. Portanto, o aumento da T_{cauda} possivelmente foi consequência de um aumento do fluxo sanguíneo devido à pressão arterial média aumentada e a maior dissipação de calor ocorreu em função de ajustes cardiovasculares (PIRES et al., 2007). De fato evidências demonstram que o receptor AT2 tem expressão no tronco cerebral, área conhecidamente responsável pela regulação da pressão arterial (JOHREN et al., 1997), e que sua participação no SRA cerebral influencia diretamente neste mecanismo (LI et al., 2003).

Outra hipótese que justificaria a ausência de atenuação na T_c em função do aumento da vasodilatação da cauda a partir do 13^o minuto do exercício estaria relacionada ao possível aumento da produção de calor ocasionada pelo uso de PD. Sabe-se que parte da energia metabólica consumida durante o exercício, é dissipada na forma de calor, e a outra parte é usada para realizar trabalho mecânico (LEITE et al., 2006). De fato os animais do grupo PD apresentaram maiores valores de W (gráfico 2), assim como aumento no TTE (gráfico 2), demonstrando que o grupo PD realizou mais trabalho mecânico que o grupo SAL. Portanto, o calor empregado na manutenção deste maior regime de trabalho pode ter influenciado no equilíbrio entre a produção e a dissipação de calor, dificultando a atenuação da T_c no período em que houve maior dissipação de calor.

Uma vez que não foi verificada alteração na T_c , o tratamento com PD também não desencadeou alterações importantes na HSR e BHR durante o experimento (gráfico 5). O fato dos animais terem atingido valores absolutos de T_c diferentes no ponto de fadiga, sendo que o maior valor alcançado foi após tratamento com PD (gráfico 3A) reforça a hipótese de que não seria um valor fixo absoluto da temperatura que contribuiria para a diminuição do desempenho, mas sim a velocidade com que variam. Ou seja, quanto mais gradativo for à elevação da T_c , ou da BHR e HSR, mais sustentável será a progressão do esforço até o ponto de fadiga. Tendo em vista que a T_c no ponto de fadiga durante o exercício físico foi mais elevada no grupo com maior desempenho, é possível que o TTE e W aumentados no grupo PD (gráfico 2), tenha acarretado aumento na produção de calor em função do aumento do trabalho mecânico (LEITE et al., 2006), provocando elevação da T_c no ponto de fadiga.

Com base nas informações de que a demanda metabólica do exercício leva a aumento na produção de calor, a dissipação de calor é um fator importante para a manutenção do exercício evitando hipertermia excessiva (WEBB, 1995). Em ratos, a vasodilatação da cauda é o principal mecanismo de dissipação de calor durante o exercício (WILSON et al., 1978). Neste estudo, verificou-se que a dose de PD utilizada não demonstrou diferença na elevação do TT_cV entre os grupos (gráfico 6). Entretanto, no grupo PD a magnitude da vasodilatação da cauda foi mais intensa a partir do 13^o minuto de exercício (gráfico 3B), demonstrando que este efeito da droga se acentuou em estágios mais avançados do exercício físico. Este aumento

da magnitude da vasodilatação da cauda na fase estável do exercício físico contribuiu para que os mecanismos de dissipação de calor funcionassem de maneira mais eficiente, proporcionando aos animais do grupo PD uma melhora no desempenho físico, evidenciada pelo aumento do TTE (gráfico 2).

O fato da T_c no ponto de fadiga ter sido maior nos animais PD pode estar relacionado com alteração nas concentrações de dopamina (DA) na POA (BALTHAZAR et al., 2009). Foi constatado que o aumento de DA na POA desencadeia aumento no TTE por permitir a manutenção do exercício, mesmo com altos valores de T_c (BALTHAZAR et al., 2009; HASEGAWA et al., 2008), sem alterações na percepção de esforço ou conforto térmico (ROELANDS et al., 2008b). Nesses estudos é exposto o argumento de que o aumento de DA na POA inibe os sinais inibitórios para interrupção do esforço que são decorrentes da sobrecarga térmica. Além disso, resultados demonstram que a DA aumenta a dissipação de calor (GISOLFI et al., 1980). Essas informações estão de acordo com os ajustes térmicos e mecânicos encontrados no presente estudo, inclusive o aumento do W no grupo PD (gráfico 2).

De fato o possível aumento do conteúdo central de DA durante o exercício físico (HASEGAWA et al., 2008), em função do bloqueio do receptor AT2 pode ter contribuído para a melhoria do desempenho físico observada no presente estudo, principalmente considerando que a ANG II seria um fator que desencadearia respostas periféricas a partir do sistema nervoso central (McKINLEY et al., 2003), por exemplo o aumento da vasodilatação da cauda. Dessa forma, seria possível assumir que o aumento do desempenho durante o exercício físico devido ao bloqueio central do receptor AT2 poderia ter relação não somente com o controle termorregulatório, mas também com outras funções exercidas pela ANG II, como aumento na disponibilidade de neurotransmissores, da eficiência mecânica e do aporte sanguíneo para a musculatura, causado pela vasodilatação (JONES; WOODS, 2003).

É importante ressaltar que os dados encontrados no presente estudo corroboram achados de vários autores, os quais evidenciaram efeitos distintos entre os receptores AT1 e AT2 (JOEP, 2006; WATANABE, 1999; HEIN et al., 1995; ICHIKI et al., 1995). Esses autores reportaram ação vasoconstritora para os receptores AT1

e vasodilatadora para o receptor AT2. Corroborando com essas evidências, constatou-se que o bloqueio central, durante o exercício físico, dos receptores AT1 e AT2, induzem efeitos termorregulatórios marcantes e em alguns casos divergentes durante o exercício físico (LEITE et al., 2006; WATANABE, 1999). Comparando o bloqueio do AT1 e AT2 sobre o desempenho físico, no presente estudo verificou-se que o bloqueio do receptor AT2 provoca aumento no TTE e no W, enquanto evidências anteriores demonstraram que o bloqueio do receptor AT1 reduz esses parâmetros durante o exercício físico até a fadiga (LEITE et al., 2006). Já em relação aos parâmetros térmicos, o efeito do PD durante o exercício físico inclui aumento da T_{cauda} no ponto de fadiga, indicando maior eficiência nos mecanismos de dissipação de calor, porém, sem alterar os valores do TT_cV . Já a variação da T_c , durante a atividade física não foi diferente, exceto no ponto de fadiga, no qual mostrou-se elevada, possivelmente em função do aumento da produção de calor para suprir maior quantidade de trabalho mecânico. Em oposição, o bloqueio do receptor AT1 aumenta o TT_cV , no entanto, a T_{cauda} permanece inalterada durante o exercício físico. Assim sendo, estes animais tem um retardo da dissipação de calor através da cauda, ocasionando uma T_c superior durante o exercício físico até a fadiga, com limitação do desempenho físico (LEITE et al., 2006).

7. CONCLUSÃO

Os resultados sugerem que o bloqueio do receptor AT2 para ANG II durante o exercício físico induz aumento significativo da T_{cauda} , resultando em melhor habilidade para dissipar calor e contribuindo para aprimoramento no desempenho físico e da capacidade de realizar trabalho. Por fim, nossos dados evidenciam que a transmissão angiotensinérgica central tem efeitos importantes sobre a termorregulação durante o exercício ao produzir aumento da dissipação de calor através da vasodilatação periférica, evitando altos níveis de acúmulo de calor e protegendo o cérebro contra a hipertermia excessiva.

REFERÊNCIAS

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

ANTUNES-RODRIGUES, J. AND MCCANN, S. M. Water, sodium chloride, and food intake induced by injections of cholinergic and adrenergic drugs into the third ventricle of the rat brain. **Proc Soc Exp Biol Med.** 133: 1464-1470,1970.

BALTHAZAR, C. H. et al. Performance-enhancing and thermoregulatory effects of intracerebroventricular dopamine in running rats. **Pharmacol Biochem Behav.** 93-4: 465-469, 2009.

BERTUZZI, R. C. M. et al. Fadiga muscular aguda: uma breve revisão dos sistemas fisiológicos e suas possíveis relações. **Motriz, Rio Claro.** v.10, n.1, p.45-54, jan./abr. 2004.

BIANCO, A. C. Hormônios Tireóideos, UCPs e Termogênese. **Arq Bras Endocrinol Metab.** 44/4:281-289. 2000.

BLOMSTRAND, E. A role for branched-chain amino acids in reducing central fatigue. **J Nutr.**136(2):544-7S. 2006.

BOULANT, J. A. Neural thermal reception and regulation of body temperature. In: Physiology and pathophysiology of temperature regulation (Blatteis CM, ed.). **World Scientific**, New Jersey, USA. p.94-104, 1998b.

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

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

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

BROOKS, G. A. AND WHITE, T. P. Determination of metabolic and heart rate responses of rats to treadmill exercise. **J Appl Physiol.** 45: 1009-1015, 1978.

BROOKS, G. A., DONOVAN C. M., AND WHITE, T. P. Estimation of anaerobic energy production and efficiency in rats during exercise. **J Appl Physiol.** 56: 520-525, 1984.

CAPERUTO, E. C. et al. Effect of endurance training on hypothalamic serotonin concentration and performance. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology.** v. 36, n. 2, p. 189-191, 2009.

CAREY, R. M.; SIRAGY, H. M. Newly recognized components of the renin-angiotensin system: potential roles in cardiovascular and renal regulation. **Endocrinology Review, Milan**. v. 24, n.3, p. 261-71, 2003.

CASSIS, L., HELTON, M., ENGLISH, V., BURKE, G. Angiotensin II regulates oxygen consumption. *American Journal of Physiology - **Regulatory, Integrative and Comparative Physiology***. Published 1 February, Vol. 282no. R445-R45, 2002.

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

CORDEIRO, L. M. S. et al. Inhibition of tryptophan hydroxylase abolishes fatigue induced by central tryptophan in exercising rats. **Scandinavian Journal of in Medicine and Science in Sports**. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0838.2012.01464.x>, 2012.

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

DAVIS, J. M. AND BAILEY, S. P. Possible mechanisms of central nervous system fatigue during exercise. **Med Sci Sports Exerc**. 29: 45-57, 1997.

DE GASPARO, M., CATT, K. J., INAGAMI, I., WRIGHT, J. W. & UNGER, T. H. International Union of Pharmacology. XXIII. The Angiotensin II Receptors. **Pharmacol. Rev**. 52, 415 – 472. 2000.

DE GROOT J. The rat forebrain stereotaxic coordinates. **Proc K Ned Wet**. 62:1-40, 1959.

DZAU, V. J., PRATT, R. E. Renin angiotensin system: biology, physiology and pharmacology. In: *The heart and cardiovascular system*. New York: **Raven Press**:1631-62, 1986.

FARRELL, W. J. and ALBERTS, J. R. Rat behavioral thermoregulation integrates with noshivering thermogenesis during postnatal development. **Behav Neurosci**. 121-6: 1333-1341, 2007.

FERNSTROM, J. D. AND FERNSTROM, M. H. Exercise, serum free tryptophan, and central fatigue. **J Nutr**. 136-2: 553-559, 2006.

FOLEY, T.E. AND FLESHNER, M. Neuroplasticity of dopamine circuits after exercise: implications for central fatigue. **Neuromuscular Med**. 10-2: 67-80, 2008.

FREGLY, M. J. AND ROWLAND, N. E. Effect of losartan potassium and deoxycorticosterone acetate on tail skin temperature response to acute administration of angiotensin II. **Pharmacol Biochem Behav**. 43: 229-233, 1992.

FREGLY, M. J. AND ROWLAND, N. E. Centrally mediated vasodilation of the rat's tail by angiotensin II. **Physiol Behav.** 60: 861-865, 1996.

FULLER, A., CARTER, R. N., AND MITCHELL, D. Brain and abdominal temperatures at fatigue in rats exercising in the heat. **J Appl Physiol.** 84: 877-883, 1998.

GANDEVIA, M. Spinal and supraspinal factors in human muscle fatigue. **Physiol Rev.** 81-4: 1725-1789, 2001.

GISOLFI, C. V., CHRISTMAN, J. V. Thermal effects of injecting norepinephrine into hypothalamus of the rat during rest and exercise. **Journal of Applied Physiology.** December 1, vol. 49 no. 6 937-941. 1980.

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

GONZALEZ-ALONSO, J., TELLER, C., ANDERSEN, S. L., JENSEN, F. B., HYLDIG, T., AND NIELSEN, B. Influence of body temperature on the development of fatigue during prolonged exercise in the heat. **J Appl Physiol.** 86: 1032-1039, 1999.

GORDON, C.J. Thermal biology of the laboratory rat. **Physiol Behav.** 47: 963-991, 1990.

GORDON, C. J.; PUCKETT, E.; PADNOS, B. Rat tail skin temperature monitored noninvasively by radiotelemetry: characterization by examination of vasomotor responses to thermomodulatory agents. **Journal of Pharmacological Methods.** Vol. 47, pp. 107-114, 2002.

GROBE, J., ROWLAND, N. AND KATOVICH, M. Role of angiotensin II and the subfornical organ in the pharmacological actions of ethanol. **Alcohol Alcohol.** 39: 410-417, 2004.

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

HARRI, M., KUUSELA, P., AND OKSANEN-ROSSI, R. Temperature responses of rats to treadmill exercise, and the effect of thermoregulatory capacity. **Acta Physiol Scand.** 115: 79-84, 1982.

HARTLEY, L. H., MASON, J. W., HOGAN, R. P., JONES, L. G., KOTCHEN, T. A., MOUGEY, E. H., WHERRY, F. E., PENNINGTON, L. L. AND RICKETTS, P. T. Multiple hormonal responses to graded exercise in relation to physical training. **J Appl Physiol.** 33: 602-606, 1972.

HASEGAWA, H. et al. Influence of brain catecholamines on the development of

fatigue in exercising rats in the heat. **The Journal of Physiology**. v. 586, n. 1, p. 141-149, 2008.

HEIN, L., BARSH, G. S., PRATT, R. E., DZAU, V. J. & KOBILKA, B. K. Behavioural and cardiovascular effects of disrupting the angiotensin II type-2 receptor gene in mice. **Nature**. 377, 744—747. 1995.

HUSSAIN, S. O., BARBATO, J. C., KOCH, L. G., METTING, P. J. AND BRITTON, S. L. Cardiac function in rats selectively bred for low- and high-capacity running. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**. 281: R1787-1791, 2001.

ICHIKI, T., LABOSKY, P. A., SHIOTA, C., OKUYAMA, S., IMAGAWA, Y., FOGO, A., NIIMURA, F., ICHIKAWA, I., HOGAN, B. L. M. & INAGAMI, T. Effects on blood pressure and exploratory behaviour of mice lacking angiotensin II type-2 receptor. **Nature**. 377, 748—750. 1995.

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

JOEP, H. M. et. al. AT2 receptor-mediated vasodilation in the mouse heart depends on AT1 receptor activation. **British Journal of Pharmacology**. 148, 452–458. 2006.

JOHNSON, C. D.; GILBEY, M. P. Sympathetic activity recorded from the rat caudal ventral artery in vivo. **Journal of Physiology**. v. 476, n. 3, p. 437-442, 1994.

JOHNSTON, C.I., FABRIS, B., JANDELEIT, K. Intrarenal renin-angiotensin system in renal physiology and pathophysiology. **Kidney Int**. 44(Suppl.): S59-S63. 1993.

JOHREN O., IMBODEN H., HAUSER W., MAYE I., SANVITTO G.L., AND SAAVEDRA J.M. Localization of angiotensin-converting enzyme, angiotensin II angiotensin II receptor subtypes, and vasopressin in the mouse hypothalamus. **Brain Res** 757: 218–227, 1997.

JONES, A.; WOODS, D.R. Skeletal muscle RAS and exercise performance. **Int J Biochem Cell Biol**. 35-6: 855-866, 2003.

LACERDA, A. C.; MARUBAYASHI, U.; COIMBRA, C.C. Nitric oxide pathways is an important modulator of heat loss in rat during exercise. **Brain Res Bull**. 67-2: 106-110, 2005.

LEITE, L. H. et al. Central angiotensin AT1-receptor blockade affects thermoregulation and running performance in rats. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.** 291-3: 603-607, 2006.

LEITE, L. H. et al. Central AT1 receptor blockade increases metabolic cost during exercise reducing mechanical efficiency and running performance in rats. **Neuropeptides.** 41: 189-194, 2007.

LEITE, L. H. et al. Central angiotensin AT1 receptors are involved in metabolic adjustments in response to grade exercise in rats. **Peptides.** 30: 1931-1935, 2009.

LEITE, L. H. et al. Central fatigue induced by losartan involves brain serotonin and dopamine content. **Med Sci Sports Exerc.** 42-8: 1469-1476, 2010.

LEITE, L.H., SANTIAGO, H.P., DE ALMEIDA, R.S., COIMBRA, C.C. Implications of angiotensin II in central nervous system on exercise performance. **Curr Protein Pept Sci.** 14(8):711-20. 2013.

LI, X. C., WIDDOP, R. E. AT2 receptor-mediated vasodilatation is unmasked by AT1 receptor blockade in conscious SHR. **Br J Pharmacol.** 142: 821–830. 2004.

LI, Z., IWAI, M., WU, L., et al. Role of AT2 receptor in the brain in regulation of blood pressure and water intake. **Am J Physiol Heart Circ Physiol.** 284:H116-21. 2003.

LIMA, N. R., PEREIRA, W., REIS, A. M., COIMBRA, C. C. AND MARUBAYASHI, U. Prolactin release during exercise in normal and adrenalectomized untrained rats submitted to central cholinergic blockade with atropine. **Horm Behav.** 40: 526-532, 2001.

MAEDA, S., IEMITSU, M., JESMIN, S. AND MIYAUCHI, T. Acute exercise causes an enhancement of tissue renin-angiotensin system in the kidney in rats. **Acta Physiol Scand.** 185: 79-86, 2005.

McALLISTER, R. M., HIRAI, T. AND MUSCH, T. I. Contribution of endothelium-derived nitric oxide (EDNO) to the skeletal muscle blood flow response to exercise. **Med Sci Sports Exerc.** 27: 1145-1151, 1995.

McCLESKY, E. W. Thermoreceptors: recent heat in thermosensation. **Curr Biol.** 7: 679-681, 1997.

McKINLEY, M. J. et al. The brain renin-angiotensin system: location and physiological roles. **Int J Biochem Cell Biol.** 35-6: 901-918, 2003.

MEEUSEN, R., WATSON, P., HASEGAWA, H., ROELANDS, B., PIACENTINI, M. F. Brain neurotransmitters in fatigue and overtraining. **Appl Physiol Nutr Metab.** 32(5):857-64. 2007.

MENARD, J. Anthology of the renin-angiotensin system: a one hundred reference approach to angiotensin II antagonists. **J Hypertens**. Suppl 11:S3-11, 1993.

MILTON, A. S. Thermal physiology: briefly history and perspectives. In: Physiology and pathophysiology of temperature regulation (CM Blatteis, ed.). **World Scientific**, New Jersey, USA. p.3-11, 1998.

NAGASHIMA, K. Central mechanisms for thermoregulation in a hot environment. **Industr Health**. 44: 359-367, 2006.

NAGASHIMA, K., NAKAI, S., TANAKA, M., AND KANOSUE, K. Neuronal circuitries involved in thermoregulation. **Auton Neurosci**. 85: 18-25, 2000.

NIELSEN, B. AND NYBO, L. Cerebral changes during exercise in the heat. **Sports Med**. 33: 1-11, 2003.

OHINATA, K., FUJIWARA, Y., FUKUMOTO, S., IWAI, M., HORIUCHI, M. AND YOSHIKAWA, M. "Angiotensin II and III suppress food intake via angiotensin AT2 receptor and prostaglandin EP4 receptor in mice," **FEBS Letters**. vol. 582, no. 5, pp. 773–777. 2008.

OWENS, N. C. et al. Thermoregulatory control of sympathetic fibers supplying the rat's tail. **Journal of Physiology**. v. 543, n. 3, p. 849-858, 2002.

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

PIRES, W.; WANNER, S.P.; LA GUARDIA, R.B.; RODRIGUES, L.O.C.; SILVEIRA, S.A.; MARUBAYASHI, U.; COIMBRA, C.C.; LIMA, N.R.V. Intracerebroventricular physostigmine enhances blood pressure and heat loss in running rats. **Journal of Physiology and Pharmacology**, 2007.

RODRIGUES, A. G. et al. Heat loss during exercise is related to serotonin activity in the preoptic area. **NeuroReport**. v. 20, n. 8, p. 804-808, 2009.

RODRIGUES, L. O. C. et al. Heat storage rate and acute fatigue in rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**. v. 36, n. 1, p.131-135, 2003.

ROELANDS, B. et al. The effects of acute dopamine reuptake inhibition on performance. **Medicine Science Sports Exercise**. v. 40, n. 5, p. 879-885, 2008b.

ROMANOVSKY, A. A.; IVANOV, A. I. e SHIMANSKY, Y. P. Ambient temperature for experiments in rats: a new method for determining the zone of thermal neutrality. **J. Appl. Physiol**. Vol. 92, pp. 2667- 2679, 2002.

ROMANOVSKY, A. A. Do fever and anapyrexia exist? Analysis of set point-based

definitions. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.** 287: R992-995, 2004.

ROMANOVSKY, A. A. Thermoregulation: some concepts have changed. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.** 292: 37-46, 2007.

ROULSTON, C. L., LAWRENCE, A. J., JARROTT, B. & WIDDOP, R. E. Localization of AT(2) receptors in the nucleus of the solitary tract of spontaneously hypertensive and Wistar Kyoto rats using [125I] CGP42112: Upregulation of a non-angiotensin II binding site following unilateral nodose ganglionectomy. **Brain Res.** 968, 139 – 155. 2003.

ROWELL, L.B.; WYSS, C.R.; BRENGELMANN, G.L. Sustained human skin and muscle vasoconstriction with reduced baroreceptor activity. **J. Applied Physiol.** v 34 - 639, 1973.

SCHWIMMER, H., GERSTBERGER R., AND HOROWITZ M. Nitric oxide and angiotensin II: neuromodulation of thermoregulation during combined heat and hypohydration stress. **Brain Res.** 1006: 177-189, 2004.

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

SOARES, D. D. et al. Intracerebroventricular tryptophan increases heating and heat storage rate in exercise rats. **Pharmacol Biochem Behav.** 78: 255-261, 2004.

SOARES, D. D. et al. Evidence that tryptophan reduces mechanical efficiency and running performance in rats. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior.** v. 74, n. 2, p. 357-362, 2003b.

SOARES, D. D. et al. Intracerebroventricular tryptophan increases heating and heat storage rate in exercising rats. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior.** v. 78, n. 2, p. 255-261, 2004.

SOARES, D. D.; COIMBRA, C. C.; MARUBAYASHI, U. Tryptophan-induced central fatigue in exercising rats is related to serotonin content in preoptic area. **Neuroscience Letters.** v. 415, n. 3, p. 274, 278, 2007.

STEBBINS, C. L., AND SYMONS, J. D. Role of angiotensin II in hemodynamic responses to dynamic exercise in miniswine. **J Appl Physiol.** 78: 185-190, 1995.

STOCKS, J. M. et al. Human physiological responses to cold exposure. **Aviat Space Environ Med.** 75: 444-457, 2004.

THOMAS, W. G.; MENDELSON, F. A. Angiotensin receptors: form and function and distribution. **Int J Biochem Cell Biol.** 35-6: 774-779, 2003.

TIDGREN, B., HJEMDAHL, P., THEODORSSON, E., AND NUSSBERGER, J. Renal neurohormonal and vascular responses to dynamic exercise in humans. **J**

Appl Physiol. 70: 2279-2286, 1991.

WALTERS, T. J., RYAN, K. L., TATE, L. M., AND MASON, P.A. Exercise in the heat is limited by a critical internal temperature. **J Appl Physiol.** 89: 799-806, 2000.

WAN, Y., YANG, G., WAN, S.X., YANG, B., YING, Y.R., XI, Z.X. Renin-angiotensin system-stress hormone response system. **Acta Physiologica Sinica;** 48(6):521-8. Review. Chinese, 1996.

WATANABE, T. et al. Effects of targeted disruption of the mouse angiotensin II type 2 receptor gene on stress-induced hyperthermia. **Journal of Physiology.** 515.3, pp. 881-885. 1999.

WATANABE, T., SAIKI, Y. & SAKATA, Y. The effect of central angiotensin II receptor blockade on interleukin-1 β - and prostaglandin E-induced fevers in rats: possible involvement of brain angiotensin II receptor in fever induction. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics.** 282, 873-881. 1997.

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

WILSON, K. M. AND FREGLY, M. J. Angiotensin II-induced hypothermia in rats. **J Appl Physiol.** 58: 534-543, 1985.

WILSON, K. M. AND FREGLY, M. J. Factors affecting angiotensin II-induced hypothermia in rats. **Peptides.** 6: 695-701, 1985.

WILSON, N. C., GISOLFI, C. V., FARBER, J., AND HINRICHS, D. K. Colonic and tail-skin temperature responses of the rat at selected running speeds. **J Appl Physiol.** 44: 571-575, 1978.

YANG, G., WAN, Y. AND ZHU, Y. Angiotensin II--an important stress hormone. **Biol Signals.** 5: 1-8, 1996.

YOUNG, A. A. AND DAWSON, N. J. Evidence for on-off control of heat dissipation from the tail of the rat. **Can J Physiol Pharmacol.** 60: 392-398, 1982.

ZHUO, J., ALLEN, A. M., ALCORN, D., ALDRED, G. P., MACGREGOR, D. P. & MENDELSON, F. A. The distribution of angiotensin II receptors. In: Hypertension: Pathophysiology, Diagnosis and Management. ed. Laragh, J. H. & Brenner, B. M. **New York: Raven Press, Ltd.** pp. 1739 – 1762. 1995.