ANSELMO GOMES DE MOURA

RELAÇÃO ENTRE A MODULAÇÃO AUTONÔMICA CARDÍACA E A TEMPERATURA INTERNA DURANTE A HIPERTERMIA INDUZIDA POR EXERCÍCIO FÍSICO E EXPOSIÇÃO PASSIVA AO AMBIENTE QUENTE EM RATOS

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Educação Física, para obtenção do título de *Magister Scientiae.*

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2014

Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa

T
M929r
2014

Moura, Anselmo Gomes de, 1983-
Relação entre a modulação autonômica cardíaca e a temperatura interna durante a hipertermia induzida por exercícios físicos e exposição passiva ao ambiente quente em ratos / Anselmo Gomes de Moura. – Viçosa, MG, 2014.
xvi, 78f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Thales Nicolau Primola Gomes.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Referências bibliográficas: f.72-78.

1. Pressão arterial. 2. Frequência cardíaca. 3. Termorregulação. 4. Exercícios físicos. 5. Ratos. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Educação Física. Programa de Pós-graduação em Educação Física. II. Título.

CDD 22. ed. 612.14

ANSELMO GOMES DE MOURA

RELAÇÃO ENTRE A MODULAÇÃO AUTONÔMICA CARDÍACA E A TEMPERATURA INTERNA DURANTE A HIPERTERMIA INDUZIDA POR EXERCÍCIO FÍSICO E EXPOSIÇÃO PASSIVA AO AMBIENTE QUENTE EM RATOS

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Educação Física, para obtenção do título de *Magister Scientiae.*

APROVADO: 30 de abril de 2014

Samuel Penna Wanner

José Geraldo Mill

Thales Nicolau Prímola Gomes
(Orientador)

À minha esposa Cíntia e minha filha Maria Fernanda por TUDO.

Aos meus pais, Sueli e Moura, pilares da minha formação.

Aos meus irmãos, Aneíse e Juninho.

À toda minha família, pelo apoio.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por iluminar o meu caminho.

À minha esposa Cíntia e minha filha Maria Fernanda pelo companheirismo, doação, por me aguentarem, respeitarem e por viverem comigo a maior experiência de amor que existe, que é formar uma família. Enfim, por estarem ao meu lado sempre. Amo vocês!

Aos meus pais Sueli e Moura pela minha formação pessoal, e por sempre acreditarem em mim. Amo vocês!

Aos meus irmãos Aneíse e Juninho pelo carinho, amizade, e por acreditarem em mim. Amo vocês!

À toda minha família pelo carinho e orações.

À toda família da Cíntia, a qual considero minha também, especialmente João, Simone, Thiago, Dona Valéria e Seu Raimundo pelo carinho, atenção e ajuda.

Ao professor Thales Nicolau Prímola Gomes por acreditar na minha ideia, pela orientação, compreensão e por ter me aberto portas.

Ao professor Antônio José Natali pela oportunidade, orientação e pela referência de profissional e humildade desde os tempos de graduação.

Ao professor Washington Pires pela orientação, paciência e viabilização dos meus experimentos. Dificilmente teria conseguido sem ele

À Daise Nunes Queiroz da Cunha pelas horas de conversas nas cirurgias, paciência, disponibilidade e ajuda na elaboração, execução e análise do meu estudo.

Aos professores Samuel Penna Wanner e José Geraldo Mill por aceitarem compor a banca da minha defesa.

Ao professor Jorge Roberto Peurrot de Lima por abrir as portas da FAEFID, me acolher no grupo de estudos de modulação autonômica e pela coorientação.

À Prof[a]. Laura Hora Rios Leite pela ajuda, atenção e disponibilidade desde a época em que fiz disciplina como aluno especial na FAEFID, até na execução nos experimentos na UFV.

Ao Professor André Calil por me dar a primeira oportunidade de lecionar no ensino superior, o que foi decisivo na minha escolha de ingressar no mestrado.

Ao Professor Guilherme Van Keulen por dar continuidade a oportunidade de lecionar no ensino superior e por me ajudar a ingressar no mestrado, ao me apresentar ao Prof. Jorge Peurrot.

Aos colegas da UFJF: Thadeu, Pão, Antônio, Marcelle, Eliza, Ruan Francine e especialmente ao Tiago Peçanha, por toda ajuda, inclusive na escrita do presente estudo.

Aos amigos do BIOEX: Filipe Rios, Victor, Felipe Belfort, Luis Henrique, Helton, Mateus, Miguel, Judson, Alessandro, Juliana, Márcia, Aurora, Regiane, Camila, Jackson e Cláudia, pela troca de conhecimento, trabalhos em conjunto, momentos de diversão e discussões esportivas.

Aos amigos do LAPEH: Ricardo, Isabella, Renata, Karina, Juscélia, Rafael e Pedro pelos momentos de aprendizado e descontração.

Ao meu amigo Alex por me ajudar desde sempre, inclusive por, mesmo que sem querer, dar a ideia do meu projeto de mestrado.

Aos meus amigos de graduação: Cabeça, Juninho, Guilherme, Marinho, Cássio, Tim, Nem, Breno, Tiaguinho, Caçula, Daniel, Elias, Bedetti pela parceria.

Aos amigos Dona Judith, Seu Hélcio, Neide e Roseli por me acolherem na minha chegada à Viçosa e pela amizade de sempre. Sou eternamente grato.

Aos amigos Hugo e Bárbara pela amizade e pela ajuda no retorno à Viçosa.

Aos amigos da academia WR: Rodrigo, Wagner, Juliana, Layra, Rafael, Bochecha e Bruno, Chiquinho e todos os clientes que confiaram no meu trabalho.

A todos meus clientes de personal desde a época que estava em Varginha, e em especial aos atuais Regina, Éderson e Arlete, por viverem comigo semanalmente as emoções do meu mestrado e pelos ensinamentos diários.

Ao sr. Adão pela grande disponibilidade em ajudar, e pelo seu bom humor todos os dias.

Aos animais experimentais.

À população brasileira, que através da CAPES, CNPq e FAPEMIG financiou a realização do projeto e mais um período da minha formação profissional e científica.

Enfim, a todos que de alguma forma contribuíram para a realização desse trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS VII
LISTA DE FIGURAS IX
LISTA DE TABELAS XII
RESUMO XIII
ABSTRACT XV
1. INTRODUÇÃO 1
1.1 TERMORREGULAÇÃO 1
1.2 MODULAÇÃO AUTONÔMICA CARDÍACA 4
1.3 AVALIAÇÃO DA MODULAÇÃO AUTONÔMICA CARDÍACA 7
1.4 MODULAÇÃO AUTONÔMICA CARDÍACA E TERMORREGULAÇÃO 12
2 . OBJETIVOS 13
2.1. OBJETIVO GERAL: 13
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS: 13
3. MATERIAIS E MÉTODOS 14
3.1 ANIMAIS 14
3.2 NÚMERO DE ANIMAIS 14
3.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL 15
3.4 SELEÇÃO DOS ANIMAIS 16
3.5 FAMILIARIZAÇÃO AO EXERCÍCIO NA ESTEIRA ROLANTE E À PERMANÊNCIA NO INTERIOR CAIXA DE INDUÇÃO À HIPERTEMIA PASSIVA 17
3.6 TESTE PROGRESSIVO ATÉ A FADIGA 17
3.7 IMPLANTE DO CATETER ARTERIAL E DO SENSOR DE TEMPERATURA INTRAPERITONEAL. 18
3.8 HIPERTERMIA INDUZIDA POR EXERCÍCIO FÍSICO E POR EXPOSIÇÃO PASSIVA AO AMBIENTE QUENTE 19
3.9 EUTANÁSIA 21
3.10 MEDIDAS E CÁLCULOS 22
3.10.1 Temperatura intraperitoneal (T_{ip}) 22
3.10.2 Temperatura da pele da cauda (T_{cauda}) 22
3.10.3 Temperatura ambiente da sala (T_{sala}), Temperatura esteira ($T_{esteira}$), Temperatura da caixa acrílica (T_{caixa}) 22
4. RESULTADOS 35
4.1. VARIÁVEIS DE CONTROLE 35
4.2. PARÂMETROS TERMORREGULATÓRIOS 36
4.2.1 Temperatura intraperitoneal 36
4.2.1 Temperatura da pele da cauda 37
4.2.2 Elevação da temperatura intraperitoneal 38
4.3 PARÂMETROS CARDIOVASCULARES 40

4.3.1 Pressão arterial média, sistólica e diastólica 40
4.3.2 Frequência cardíaca 42
4.3.3 Duplo produto 43
4.4 ANÁLISE DAS VARIABILIDADES CARDIOVASCULARES 44
4.4.1 Análise da variabilidade da pressão arterial sistólica no domínio do tempo 44
4.4.2 Análise da variabilidade da pressão arterial sistólica no domínio da frequência 45
4.4.3 Análise da variabilidade da frequência cardíaca no domínio do tempo .47
4.4.4 Análise da variabilidade da frequência cardíaca no domínio da frequência 48
4.4.5 Sensibilidade barorreflexa espontânea 50
4.5 PARÂMETROS CARDIOVASCULARES EM FUNÇÃO DA VARIAÇÃO DA TEMPERATURA INTRAPERITONEAL 51
4.6 ANÁLISE DAS VARIABILIDADES CARDIOVASCULARES EM FUNÇÃO DA VARIAÇÃO DA TEMPERATURA INTRAPERITONEAL. 53
4.6.1 Análise da variabilidade da pressão arterial sistólica no domínio do tempo em função da variação da temperatura intraperitoneal. 53
4.6.2 Análise da variabilidade da pressão arterial sistólica, no domínio da frequência, em função da variação da temperatura intraperitoneal. 55
4.6.3 Análise da variabilidade da frequência cardíaca, no domínio do tempo, em função da variação da temperatura intraperitoneal. 57
4.6.4 Análise da variabilidade da frequência cardíaca, no domínio da frequência, em função da variação da temperatura intraperitoneal. 59
4.7 Sensibilidade barorreflexa espontânea em função da variação da temperatura intraperitoneal. 61
5. DISCUSSÃO 62
6. CONCLUSÃO 71
7. REFERÊNCIAS 72

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ΔDPT – variação do duplo produto.

ΔFC – variação da frequência cardíaca.

ΔPAD – variação da pressão arterial diastólica.

ΔPAM – variação da pressão arterial média.

ΔPAS – variação da pressão arterial sistólica.

ΔT_{ip} – variação da temperatura intraperitoneal.

ΔT_{cauda} – variação da temperatura intraperitoneal.

AF – Alta frequência.

BF – baixa frequência.

BVR – bulbo ventrolateral rostral.

CEUA - Comissão de Ética de Uso de Animais.

COBEA – Colégio Brasileiro de Experimentação Animal.

CRMV-SP – Conselho Regional de Medicina Veterinária do Estado de São Paulo.

DP – desvio padrão.

DPT – duplo produto.

DMV – dorso motor do vago.

EPM – erro padrão da média.

FC – frequência cardíaca.

HE – hipertermia induzida por exercício físico.

HP – hipertermia passiva.

IP – intervalo de pulso.

MBF – muito baixa frequência.

NA – núcleo ambíguo.

NTS – núcleo do trato solitário.

O_2 – oxigênio.

PA – pressão arterial.

PAD – pressão arterial diastólica.

PAM – pressão arterial média.

PAP – pressão arterial pulsátil.

PAS – pressão arterial sistólica.

PE10 – tubo de polietileno com 10 mm de largura.

PE50 – tubo de polietileno com 50 mm de largura.

PO/HA – área pré-óptica do hipotálamo anterior.

Razão BF/AF – razão baixa frequência/alta frequência.

RMSSD – raiz média quadrática das diferenças dos intervalos de pulso sucessivos.

SNA – sistema nervoso autônomo.

SNC – sistema nervoso central.

SRA – sistema renina-angiotensina.

T_{amb} – temperatura ambiental.

T_{caixa} – temperatura da caixa acrílica aquecida.

T_{cauda} – temperatura da pele da cauda.

$T_{esteira}$ – temperatura no interior da caixa acrílica da esteira.

T_{final} – temperatura intraperitoneal no minuto final do aquecimento.

T_{int} – temperatura interna.

T_{ip} – temperatura intraperitoneal.

$T_{inicial}$ – temperatura intraperitoneal no minuto zero do aquecimento

T_{pele} – temperatura da pele.

TETip – taxa de elevação da temperatura intraperitoneal.

TTA – tempo total de aquecimento.

UBF – Ultra baixa frequência.

URA – Umidade relativa do ar

UFV – Universidade Federal de Viçosa.

$V_{máx}$ – velocidade máxima de corrida.

VPAS – variabilidade da pressão arterial sistólica.

VFC – variabilidade da frequência cardíaca.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1. Figura representativa dos componentes oscilatórios fundamentais dos componentes das variabilidades cardiovasculares analisadas no domínio da frequência em ratos. 9

Figura 3.1. Linha do tempo referente ao delineamento experimental 16

Figura 3.2. Figura representativa dos materiais inseridos na artéria e na cavidade abdominal dos animais. O cateter confeccionado com tubos de polietileno foi inserido na artéria carótida esquerda para medir a pressão arterial pulsátil (A). O sensor foi inserido na cavidade abdominal para medir a temperatura intraperitoneal (B). 18

Figura 3.3 – Imagens representativas das sessões experimentais. Inicialmente os ratos permaneceram em repouso por 60 min. a uma temperatura ambiente de ~25ºC em ambas sessões experimentais (A), na sequência foram submetidos à hipertermia induzida por exercício (HE) (B) ou por meio de caixa pré aquecida a 35 ºC (C) à hipertermia passiva (HP) (D). 21

Figura 3.4. Registro da pressão arterial pulsátil (software LabCHART 7) de um rato durante o repouso e a indução à hipertermia em cada sessão experimental. A frequência de amostragem do software foi mantida em 2 kHz 23

Figura 3.5. Pressão arterial pulsátil em função do número de amostras. O software LabChart 7 detectou os picos sistólicos (pontos em verde) no registro da pressão arterial (em vermelho), os quais foram utilizados para o cálculo de pressão arterial sistólica, diastólica, média e frequência cardíaca. Os dados são referentes à análise de um rato durante a sessão de hipertermia induzida por exercício 24

Figura 3.6. Valores de pressão arterial sistólica, diastólica, média e frequência cardíaca (Em preto) ao longo do tempo obtidos a partir da detecção dos picos sistólicos no registro da pressão arterial pulsátil e plotados pelo software LabChart 7. Os dados são referentes à análise de um rato durante a sessão de hipertermia induzida por exercício 25

Figura 3.7. Exclusão e substituição de valores espúrios de pressão arterial sistólica, diastólica, média e frequência cardíaca pela média do trecho analisado por meio da fórmula destacada em vermelho. Destacado em preto, está o valor do intervalo de pulso obtido a partir dos valores de frequência cardíaca filtrada. Os dados são referentes à análise de um rato durante a sessão de hipertermia induzida por exercício 25

Figura 3.8. Arquivo com formato .txt gerado pelo software Microsoft Excel 2007 a partir do registro da pressão arterial pulsátil. A coluna da esquerda representa o tempo, a coluna do meio representa o intervalo entre os picos sistólicos (ms) e a coluna da direita os valores da pressão arterial sistólica (mmHg). Os dados são referentes à análise de um rato durante a sessão de hipertermia induzida por exercício. 26

Figura 3.9. Programa CARDIOSERIES versão 2.4. A tela inicial do programa mostra os parâmetros da variabilidade no domínio do tempo. O painel superior mostra os valores do intervalo de pulso (ms) e o painel inferior mostra a pressão arterial sistólica (mmHg) em função do tempo (segundos). Os dados são referentes à análise de um rato durante a sessão de hipertermia induzida por exercício 27

Figura 3.10. Segunda página do programa CARDIOSERIES versão 2.4. Nos painéis numerados de 11 a 16 (à esquerda), estão representados os parâmetros da variabilidade no domínio da frequência em segmentos de 512 pontos (em verde; o trecho analisado é dividido em subtrechos de 512 pontos). Na parte superior e à direita, estão representados a taxa de interpolação e o tamanho do segmento (em azul). Logo estão representadas as larguras das bandas de muito baixa, baixa e alta frequência (em vermelho). Na parte inferior e à direita, está representado um gráfico da densidade espectral calculada como a média da densidade dos seis segmentos analisados (em preto). Os dados são referentes à análise da variabilidade da frequência cardíaca de um rato durante a sessão de hipertermia induzida por exercício 28

Figura 3.11. Terceira página do programa CARDIOSERIES versão 2.4. Na parte superior e à esquerda, estão representados o atraso utilizado para análise (em azul), a correlação linear superior a 0,80 (em preto) e sequências mínima de 4 batimentos consecutivos (em roxo). Nos painel ao centro e à esquerda estão representadas as sequências barorreflexas analisada (em verde) Na parte inferior e à esquerda está representado o valor médio do ganho (em vermelho). Os dados são referentes à análise de um rato durante a sessão de hipertermia induzida por exercício.....30

Figura 4.1. Temperatura intraperitoneal em função do tempo. Inicialmente os ratos permaneceram em repouso (-60 a 0 min), e na sequência foram submetidos à hipertermia induzida por exercício (HE) ou hipertermia passiva a 35ºC (HP) 36

Figura 4.2. Temperatura da pele da cauda em função do tempo. (A) Inicialmente os ratos permaneceram em repouso (-60 a 0 min) e, na sequência foram submetidos à hipertermia induzida por exercício (HE) ou hipertermia passiva a 35ºC (HP) 37

Figura 4.3. Taxa de elevação da temperatura intraperitoneal (A), Elevação da temperatura intraperitoneal (B) e Tempo para elevação da temperatura intraperitoneal (C) durante a indução à hipertermia nas sessões experimentais.....39

Figura 4.4. Pressão arterial em função do tempo. Inicialmente os ratos permaneceram em repouso (-60 a 0 min) e, na sequência foram submetidos à hipertermia induzida por exercício (HE) ou hipertermia passiva a 35ºC (HP). 41

Figura 4.5. Frequência cardíaca em função do tempo. Inicialmente os ratos permaneceram em repouso (-60 a 0 min) e, na sequência foram submetidos à hipertermia induzida por exercício (HE) ou hipertermia passiva a 35ºC (HP) 42

Figura 4.6 – Duplo produto em função do tempo. Inicialmente os ratos permaneceram em repouso (-60 a 0 min) e, na sequência foram submetidos à hipertemia induzida por exercício (HE) ou hipertemia passiva a 35ºC (HP).....43

Figura 4.7. Densidade espectral da variabilidade da pressão arterial sistólica. Análise dos momentos repouso (10 min de sinal mais estável) e hipertermia (10 min finais). (A) Muito baixa frequência; (B) Baixa frequência; (C) Alta frequência 46

Figura 4.8. Densidade espectral da variabilidade da frequência cardíaca. Análise dos momentos repouso (10 min mais estáveis) e hipertermia (10 min finais). (A) Muito baixa frequência; (B) Baixa frequência; (C) Alta frequência; (D) Razão Baixa/Alta frequência 49

Figura 4.9. Sensibilidade barorreflexa espontânea (ganho). Análise dos momentos repouso (10 min. mais estáveis) e hipertermia 50

Figura 4.10. Parâmetros cardiovasculares em função das variações da temperatura intraperitoneal. (A) Pressão arterial sistólica; (B) Frequência cardíaca; (C) Duplo produto 52

Figura 4.11. Densidade espectral da variabilidade da pressão arterial sistólica em função da variação da temperatura intraperitoneal. (A) Muito baixa frequência; (B) Baixa frequência; (C) Alta frequência. 56

Figura 4.12. Densidade espectral da variabilidade da frequência cardíaca em função das variações da temperatura intraperitoneal. (A) Muito baixa frequência; (B) Baixa frequência; (C) Alta frequência; (D) Razão Baixa/Alta frequência 60

Figura 4.13. Sensibilidade barorreflexa espontânea (ganho) em função da variação da temperatura intraperitoneal 61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1. Significado fisiológico dos índices da variabilidade da pressão arterial sistólica nos domínios do Tempo e da Frequência 10

Tabela 1.2. Significado fisiológico dos índices da variabilidade da frequência cardíaca nos domínios do Tempo e da Frequência 11

Tabela 4.1 – Temperatura ambiente da sala durante o repouso, e da esteira e caixa aquecida durante o período de indução à hipertemia nas sessões experimentais 35

Tabela 4.2. Parâmetros da variabilidade da pressão arterial sistólica, analisados no domínio do tempo, durante os momentos repouso (10 min) e hipertemia (10 min finais) durante as sessões HE e HP 44

Tabela 4.3. Parâmetros da variabilidade da frequência cardíaca, analisados no domínio do tempo durante os momentos repouso (10 min de sinal mais estável) e hipertermia (10 min finais) durante as sessões HE e HP 47

Tabela 4.4 – Parâmetros da variabilidade da pressão arterial sistólica, analisados no domínio do tempo, em função das variações da temperatura intraperitoneal durante as sessões HE e HP. 54

Tabela 4.5. Parâmetros da variabilidade da frequência cardíaca, analisados no domínio do tempo, em função das variações da temperatura intraperitoneal durante as sessões HE e HP 58

RESUMO

MOURA, Anselmo Gomes de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, abril de 2014. **Relação entre a modulação autonômica cardíaca e a temperatura interna durante hipertermia induzida por exercício físico e exposição passiva ao ambiente quente em ratos.** Orientador: Thales Nicolau Prímola Gomes. Coorientadores: Washington Pires, Daise Nunes Queiroz da Cunha, Jorge Roberto Peurrot de Lima e Antônio José Natali.

O objetivo deste estudo foi comparar as alterações na modulação autonômica cardíaca em duas situações experimentais: por hipertermia induzida pelo exercício físico e por exposição passiva ao ambiente quente. O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética do Departamento de Medicina Veterinária da UFV (#08/2014). Oito ratos Wistar (328±6g, idade:13±1 sem) foram selecionados e familiarizados a correrem em uma esteira (15m/min) e permanecerem em uma caixa de acrílico (5 min/5 dias). Em seguida, foram submetidos ao teste progressivo até a fadiga (vel. Inicial:10m/min com incrementos de 1m/min a cada 3 min) em ambiente temperado (25°C) para medir a velocidade máxima de corrida ($V_{máx}$). Após, foram submetidos ao implante de cateter arterial e de sensor de temperatura intraperitoneal (T_{ip}). Em seguida, foram submetidos à hipertermia induzida por exercício físico (HE) à 80% da $V_{máx}$ e hipertemia passiva por exposição ao ambiente quente à 35ºC (HP), de forma randomizada, com 48 horas de intervalo entre elas. As sessões consistiram em um período de repouso de 60 min seguido de elevação da T_{ip} em 2ºC, a partir do último valor registrado no repouso. A T_{ip}, a temperatura da pele da cauda (T_{cauda}) e a pressão arterial pulsátil (PAP) foram medidas ao longo das sessões. A partir da PAP obteve-se a pressão arterial média (PAM), sistólica (PAS) e diastólica (PAD), a frequência cardíaca (FC) e o duplo produto (DP), bem como as variabilidades da pressão arterial sistólica (VPAS), da frequência cardíaca (VFC) e da sensibilidade barorreflexa (SBR). A VPAS e VFC foram analisadas no domínio do tempo (média, desvio-padrão, variância e RMSSD) e no domínio da frequência, por meio das bandas espectrais de potência de muito baixa (MBF), baixa (BF) e alta frequência (AF), e da razão baixa/alta frequência (Razão BF/AF). Os dados dos parâmetros cardiovasculares, da VPAS, da VFC e da sensibilidade barorreflexa foram analisados em função da variação da T_{ip} (ΔTip), para buscar uma relação dessas variáveis com a temperatura interna. Os dados com distribuição normal são apresentados como média ± EPM. Os dados com distribuição não normal são apresentados como mediana. O nível de significância foi $\alpha = 5\%$. A T_{ip} (HE:39,29 ± 0,11 vs. HP:38,97 ± 0,26 ºC, $p>0,05$) e o tempo para elevação da T_{ip} em 2ºC (HE:41,3 ± 9,8 vs. HP:35 ± 7,2 min,

p>0,05) não diferiram entre as sessões. A T_{cauda} foi maior na sessão HP comparada à HE (HP:38,49 ± 0,25 vs. HE:32,95 ± 0,46 ºC, p<0,05). As sessões aumentaram a PAM (HE:124,89 vs. HP:128,27 mmHg, p>0,05), a PAS (HE:130,60 vs. HP:133,95 mmHg, p>0,05) e a PAD (HE:119,85 vs. HP:121,07 mmHg, p>0,05) de forma equivalente. Já a FC (HE:548,34 vs. HP:401,29 bpm, p<0,05) e o DP (HE:66303 vs. HP:49786 bpm.mmHg, p<0,05) foram maiores na HE comparada à HP. A VPAS e a VFC não apresentaram diferenças entre as sessões no domínio do tempo (p>0,05), contudo a sessão HE apresentou maiores valores de densidade espectral em comparação à HP em todas as bandas de frequência para VPAS (MBF- HE:11,10 ± 2,13 $mmHg^2$ vs. HP:7,8 ± 2,07 $mmHg^2$; p<0,05; BF- HE: 9,84 ± 2,35 vs. HP:4,54 ± 1,64 $mmHg^2$; p<0,05; AF- HE:12,76 ± 3,17 vs. HP:1,02 ± 0,28 $mmHg^2$; p<0,05); na BF da VFC (HE:20,84 ± 6,18 vs. HP: 6,96 ± 1,64 ms^2; p<0,05) e na Razão BF/AF (HE:0,32 ± 0,08 vs. HP:0,16 ± 0,02 ms^2; p<0,05). Não houveram diferenças entre as sessões na banda de MBF (HE:8,19 ± 2,12 vs. HP: 8,87 ± 1,97 ms^2; p>0,05), AF da VFC (62,59 ± 9,3 ms^2 *vs.* 40,02 ± 8,03 ms^2; p>0,05). Os valores de SBR não diferiram entre os protocolos experimentais (HE: 2,87 ± 0,42 vs. HP 3,55 ± 0,62 $ms.mmHg^{-1}$; p>0,05). Ao realizar as análises em função da ΔT_{ip}, as diferenças entre os grupos permaneceram destacadas. Em conclusão, ambas as situações experimentais foram capazes de alterar a modulação autonômica cardíaca em ratos. Contudo, essa alteração foi mais pronunciada durante hipertermia induzida por exercício físico.

ABSTRACT

MOURA, Anselmo Gomes de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, April 2014. **Relationship between cardiac autonomic modulation and core temperature during hyperthermia induced by exercise and passive heating in rats.** Advisor: Thales Nicolau Prímola Gomes. Co-advisors: Washington Pires, Daise Nunes Queiroz da Cunha, Jorge Roberto Peurrot de Lima e Antônio José Natali.

The aim of this study was to compare the changes in cardiac autonomic modulation in two experimental situations: hyperthermia induced by exercise (HE) and by passive heating (PH). The study was approved by the Ethics Committee in Animal Use/UFV (CEUA # 08/2014). Eight male Wistar rats (328 ± 6 g, age: 13 ± 1 weeks) were selected and familiarized to a treadmill running (15m/min) and to an acrylic heating box (5 min) during 5 days. After, the animals underwent an incremental-speed exercise until fatigue (initial velocity: 10m/min followed by increments of 1m/min every 3 min) in a temperate environment (25°C) to measure the maximal running velocity (V_{max}). After that, the animals were implanted a catheter into the ascending aorta to record pulsatile arterial pressure (PAP) and a telemetry sensor in the abdominal cavity to measure T_{ip}. After recovering, the animals were randomly subjected to HE (80% V_{max}, ambient temperature = 25°C) and PH (35ºC) protocols. It consisted of a rest period of 60 min followed by T_{ip} increases of 2°C. The T_{ip}, tail skin temperature (T_{skin}) and PAP were measured. The mean arterial pressure (MAP), systolic (SBP) and diastolic (DBP) pressures, heart rate (HR), double product (DP), systolic blood pressure variability (SBPV), heart rate variability (HRV) and baroreflex sensitivity (BRS) were obtained from PAP. The SBPV and HRV were analyzed in the time (mean, standard deviation, variance and RMSSD) and frequency domains by spectral bands with very low (VLF), low (LF) and high (HF) frequencies. Low frequency/ high frequency ratio (LF/HF ratio) was calculated. Data for cardiovascular parameters, SBPV, HRV and BRS were analyzed as a function of the variation of T_{ip} (ΔT_{ip}) to find a relationship of these variables with core temperature. Data with normal distribution are presented as mean ± SEM and those with non-normal distribution are presented as median. The significance level was α = 5%. The T_{ip} (HE: 39.29 ± 0.11°C vs. PH: 38.97 ± 0.26°C, $p > 0.05$) and the time taken to increase T_{ip} in 2ºC (HE: 41.3 ± 9.8 min vs. PH: 35.0 ± 7.2 min, $p > 0.05$) did not differ between protocols. T_{skin} was higher ($p < 0.05$) during PH (38.49 ± 0.25 °C) than during HE (32.95 ± 0.46°C). No differences between protocols were found for MAP (HE: 124.89 mmHg vs PH: 128.27 mmHg, $p > 0.05$), SBP (HE: 130.60 mmHg

vs PH: 133.95 mmHg, p> 0,05) and DBP (HE: 119.85 mmHg vs PH: 121.07 mmHg, p> 0.05). However, HR showed higher values during HE as compared to HP (HE: 548.34 bpm vs. PH: 401.29 bpm, p <0.05) and DP (HE: 66303 bpm.mmHg vs. PH: 49786 bpm.mmHg, p <0,05). The time domain of SBPV and HRV were not different between protocols (p> 0.05). Nevertheless, the spectral density at all frequency bands examined exhibited higher (p <0.05) values during HE than during PH for SBPV (VLF-HE: 11.10 ± 2.13 $mmHg^2$ vs PH: 7.8 ± 2.07 $mmHg^2$; LF-HE: 9.84 ± 2.35 $mmHg^2$ vs. PH: 4.54 ± 1.64 $mmHg^2$; HF-HE: 12.76 ± 3.17 $mmHg^2$ vs. PH: 1.02 ± 0.28 $mmHg^2$). In addition, the spectral density was higher (p<0.05) during HE as compared to HP at LF for HRV (HE: 20.84 ± 6.18 ms^2 vs. PH: 6.96 ± 1.64 ms^2, respectively) and for LF/HF ratio (HE: 0.32 ± 0.08 ms^2 vs. PH: 0.16 ± 0.02 ms^2, respectively). However, no differences (p>0.05) between protocols in the spectral density were found for HRV either at VLF or at HF. BRS values were not different between protocols (p <0.05). When cardiovascular parameters, SBPV, HRV and BRS were analyzed as a function of ΔT_{ip}, the observed differences between experimental situations remained. In conclusion, both HE and PH are capable of altering the cardiac autonomic modulation of rats, being the changes more pronounced in exercise-induced hyperthermia.

1. INTRODUÇÃO

1.1 Termorregulação

A termorregulação é definida como a capacidade de controlar a temperatura corporal em qualquer condição ambiental. Os animais homeotérmicos, dentre eles o roedores, mantêm sua temperatura corporal dentro de limites estreitos, independentes de variações na temperatura ambiente (T_{amb}) (Bligh e Johnson, 1973). Esses ajustes ocorrem por meio de mecanismos autonômicos e comportamentais de produção e dissipação de calor, os quais interferem na troca de calor entre o corpo e o ambiente (Gordon, 1993). Logo, a magnitude das respostas efetoras nos mamíferos depende da T_{amb} na qual se encontram (Gordon, 1993).

Os mecanismos autonômicos responsáveis por produzir calor são a termogênese associada ao tremor e o metabolismo do tecido adiposo marrom. Para dissipar calor, os roedores dispõem de vasodilatação cutânea e a evaporação de fluidos corporais. Nos ratos, a perda evaporativa ocorre por meio da saliva que o animal espalha sobre o próprio corpo ou através da evaporação de água nas vias respiratórias (Gordon, 1990). Além disso, pode ocorrer a transferência passiva de calor entre o corpo e o ambiente por meio de condução, convecção e radiação (Webb, 1995). Juntamente com os mecanismos autonômicos, a temperatura interna (T_{int}) é regulada por meio de mecanismos comportamentais. Nos roedores os principais comportamentos termorregulatórios são o espalhamento de saliva pelo corpo (Schwimmer *et al.*, 2004), a seleção da T_{amb} mais confortável (Romanovsky *et al.*, 2002) ou ainda os ajustes posturais que alteram a área de superfície corporal exposta ao ambiente (Nagashima *et al.*, 2000).

O modelo mais recente de organização funcional da termorregulação, (Boulant, 2006; Romanovsky *et al.*, 2009) sugere que a T_{int} seja regulada através de alças efetoras distintas e independentes. Cada alça termoefetora é constituída por uma única via neural eferente (Nagashima *et al.*, 2000; Morrison *et al.*, 2008), que utiliza informações aferentes provenientes da retroalimentação a partir das alterações da variável de controle, a T_{int}, e a partir da variável auxiliar, a temperatura da pele (T_{pele}). O uso da variável auxiliar permite um controle mais preciso da T_{int}, possibilitando respostas mais

rápidas frente às alterações que ocorrem no ambiente. Segundo esse modelo, um sinal elétrico é gerado quando a temperatura local atinge o limiar de despolarização do termorreceptor e se espalha por via neural para conduzir a resposta efetora para o controle termorregulatório (Kobayashi, 1989; Okazawa *et al.*, 2002). Essa forma de organização enfatiza a importância de elementos termorreceptivos de neurônios que funcionam como sensores e confere a esses elementos o papel principal na determinação da resposta efetora (Romanovsky *et al.*, 2009).

A capacidade de um organismo de manter a T_{int} em uma faixa estreita de variação depende da integração da informação aferente proveniente dos receptores térmicos centrais (localizados no SNC e nas vísceras) e periféricos (localizados na pele). O centro integrativo de sinais térmicos centrais e periféricos está localizado na área pré/óptica do hipotálamo anterior (PO/HA) (Gordon, 1990; Webb, 1995; Mccleskey, 1997) A modulação da atividade neuronal nesta área, desencadeia respostas efetoras para produzir, conservar ou dissipar calor. Os termorreceptores da pele são estimulados principalmente pelas oscilações da T_{amb} e os receptores internos por alterações da T_{int}. As aferências oriundas da estimulação desses receptores convergem através do corno dorsal da medula espinhal, atingem o córtex via núcleo parabraquial e por fim alcançam a PO/HA. Além da informação periférica, existem vias que sinalizam as alterações da temperatura cerebral. Isso ocorre por meio da estimulação dos sensores localizados em várias áreas do SNC, como medula espinhal, hipotálamo e PO/HA (Zhang *et al.*, 1997; Ishiwata *et al.*, 2002). As vias de produção/dissipação de calor são moduladas também por estímulos não térmicos. As principais aferências são provenientes dos osmorreceptores (Osaka *et al.*, 2001) e dos barorreceptores (Zhang *et al.*, 1997). A integração das aferências advindas dos barorreceptores arteriais no centro termorregulatório demonstra a participação do sistema cardiovascular na regulação da temperatura corporal.

As medidas da T_{int} e da T_{pele} são comumente utilizadas em estudos que utilizam o rato como modelo experimental para o estudo da termorregulação. A primeira pode ser medida em diferentes locais do corpo, como por exemplo, nas regiões abdominal, torácica, colônica e cerebral. Por outro lado, os valores e a velocidade de resposta a estresses térmicos (incluindo o exercício físico) não são homogêneos entre esses diferentes índices (Gagnon *et al.*, 2010; Drummond, 2014). A alteração do fluxo sanguíneo na pele da cauda dos ratos é o principal mecanismo de dissipação de calor durante o exercício físico. Durante experimentos, a temperatura da pele é medida na

porção lateral da base da cauda, por este ser um local no qual as alterações na temperatura apresentam alta correlação com as alterações do fluxo sanguíneo (Young e Dawson, 1982).

O controle termorregulatório durante o exercício físico em esteira com velocidade constante em ambiente temperado pode ser dividido em duas fases dependentes da intensidade: a dinâmica e a estável (Lacerda *et al.*, 2005; Pires *et al.*, 2007). Durante o exercício físico de alta intensidade e/ou em ambiente quente, em esteira, não ocorre a fase estável do controle de temperatura. A T_{int} aumenta de forma rápida, acompanhando o aumento do consumo de O_2, até a interrupção do exercício. Mesmo após o aumento da dissipação de calor pela pele da cauda, a T_{int} continua aumentando acentuadamente em função da intensidade do exercício (Balthazar *et al.*, 2009).

Assim como no exercício físico em esteira rolante, quando ratos são expostos a um ambiente quente, a T_{int} aumenta (Gonzalez-Alonso *et al.*, 1999). Em ambos os casos há um aumento na necessidade de dissipar calor e, consequentemente, o fluxo sanguíneo na cauda aumenta. A cauda dos ratos possui uma razão elevada entre área de superfície e o volume, não possui pêlos, possui uma rede densa de vasos sanguíneos e anastomoses artério-venosas (Romanovsky *et al.*, 2002). Contudo, a hipertermia induzida pelo exercício físico ocorre por meio de mecanismos diferentes daquela induzida pela exposição ao ambiente quente. Durante o exercício, o aumento da T_{int} é decorrente do calor produzido nos músculos em contração. Por outro lado, durante a exposição ao calor não ocorre aumento da produção de calor, pois não existe contração muscular. A exposição passiva ao ambiente quente dificulta a perda de calor por convecção (principal mecanismo de dissipação de calor em ratos) e resulta no aumento da T_{int}, mas possibilita a perda evaporativa de calor tanto por meios autonômicos quanto comportamentais. Já o aumento do fluxo sanguíneo na cauda é o mecanismo primário de dissipação de calor durante o exercício em ratos, uma vez que a perda evaporativa de calor nessa situação é muito limitada, pois a realização do exercício impossibilita o comportamento de dispersão da saliva pelo corpo (Wilson *et al.*, 1978).

Com a necessidade do aumento da dissipação cutânea de calor ocorre uma redistribuição do fluxo sanguíneo das áreas menos ativas para áreas que se encontram em atividade. Logo ocorre diminuição do fluxo sanguíneo renal, hepático, gástrico e intestinal por meio de vasoconstrição desses locais, e aumento de fluxo de sangue para a pele, no caso da exposição ao ambiente quente, e para os músculos em contração e a

pele, no caso do exercício físico (Wilmore e Costill, 2001). Neste, o desvio de sangue para os músculos esqueléticos e para a pele, para suprir as necessidades metabólicas do exercício e para a regulação da temperatura corporal pela dissipação do calor, respectivamente, gera uma competição do fluxo sanguíneo (González-Alonso *et al.*, 2008).

Os ajustes do fluxo sanguíneo cutâneo e as alterações desencadeadas em resposta a alterações na T_{int} e/ou da T_{pele} parecem ser determinadas pela atividade simpática vascular, a qual, além de ser regulada por fatores térmicos, é também modulada por mecanismos reflexos de regulação da pressão arterial: barorreflexo e reflexo pressórico do exercício (Iellamo, 2001). Esses mecanismos desencadeiam respostas mediadas pelo sistema nervoso autônomo simpático (Rowell, 1974), alteram a modulação autonômica cardíaca e evidenciam que o sistema cardiovascular está diretamente relacionado à manutenção da temperatura corporal.

1.2 Modulação autonômica cardíaca

A frequência cardíaca (FC) é modulada intrínseca e extrinsecamente. A modulação intrínseca decorre dos disparos rítmicos determinados pelo nodo sinoatrial que, posteriormente, percorrem todo o tecido cardíaco. Já a regulação extrínseca ocorre através da inervação autonômica simpática e parassimpática. As terminações nervosas parassimpáticas liberam acetilcolina na junção neuroefetora cardíaca, e esse neurotransmisor se liga aos receptores muscarínicos e se acopla a proteína G inibitória, aumentando a duração dos ciclos sinusais e diminuindo a FC (Jensen-Urstad *et al.*, 1997). Já as fibras simpáticas, induzem aumento da força de contração e da FC por meio da liberação de noradrenalina na fenda sináptica, a qual se liga aos receptores β-adrenérgicos e acopladada a proteína G excitatória, aumentam o ritmo de despolarização do marcapasso sinusal, e consequentemente a FC (Kamosinska *et al.*, 1989).

A pressão arterial (PA) é controlada por uma série de mecanismos que agem em curto, médio e longo prazo. O barorreflexo arterial é o principal mecanismo que ajusta as oscilações de curto prazo da PA. Os barorreceptores são os mecarreceptores sensíveis ao estiramento e estão localizados predominantemente no arco aórtico e no seio carotídeo. Esses receptores monitoram a pressão do sangue que vai ao encéfalo e ao corpo, funcionando como um mecanismo de retro-alimentação que resulta na

modulação da atividade autonômica eferente para o coração e da atividade simpática para os vasos sanguíneos (Rowell e Shepherd, 1996).

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

Durante o repouso, se a PA desvia da faixa adequada para a manutenção do fluxo sanguíneo tecidual, os barorreceptores são estimulados para que esta seja reajustada aos valores basais. Se a PA aumenta, os barorreceptores são estimulados e disparam uma resposta aferente ao centro de controle cardiovascular, o qual induz aumento da atividade cardíaca vagal, resultando em diminuição da FC por meio de reposta eferente do nervo vago. Caso haja diminuição da PA, o grau de estiramento dos barorreceptores diminui, resultando em aumento da atividade simpática eferente e desencadeia uma elevação na FC no nodo sinoatrial, uma diminuição no tempo de condução do impulso no nodo atrioventricular, um aumento da contratilidade cardíaca, aumentando assim o débito cardíaco; além disso, a atividade simpática atua sob arteríolas e veias gerando aumento da resistência periférica total e do retorno venoso.

Interessantemente, para que ocorra o aumento do fluxo sanguíneo nos músculos em contração durante o exercício a PA e a FC aumentam simultaneamente, ao contrário da condição de repouso. Inicialmente pensou-se que o exercício físico inibia o controle barorreflexo da PA, em virtude desse aumento simultâneo. Durante o esforço, o ponto de ajuste do reflexo (determinado centralmente) é ajustado para manter a PA em valor mais elevado em comparação ao repouso, exigindo aumento FC (Mcilveen, Stephen A. *et al.*, 2001). Essa ação diferente dos barorreceptores arteriais, ou seja uma alteração no ponto de ajuste dos barorreceptores, foi denominada por Heesch e Carey (Heesch e Carey, 1987) de *resetting* do barorreflexo. Um estudo recente (Pires *et al.*, 2013), demonstrou a ocorrência do controle barorreflexo durante o exercício, ao utilizar uma técnica de desnervação sinoaórtica.

O reajuste do barorreflexo ocorre pela interação da modulação de três vias neurais: 1) A ativação do comando central no início e durante o exercício altera a função neuronal dentro do NTS e no bulbo ventrolateral rostral (BVR) (Williamson, 2010); 2) A estimulação dos metaborreceptores musculares limita o grau de excitação dos neurônios barossensíveis no NTS, por meio de um mecanismo GABAérgico inibitório; 3) A ativação dos receptores musculares excita diretamente os neurônios pré-motores simpáticos no BVR (Potts, 2006).

Além das alterações na função barorreflexa durante o exercício físico, a hemodinâmica central e as respostas ventilatórias estão sob controle do sistema nervoso autônomo (SNA). Assim, o equilíbrio autonômico é mantido não só pela ação barorreflexa arterial, mas também por quimiorreflexo central e periférico, ergorreflexos e reflexo de estiramento pulmonar, reajustando a circulação e ventilação para manter a perfusão tecidual (Crisafulli *et al.*, 2003).

Diante das afirmações citadas acima, além do reflexo barorreceptor, mais dois mecanismos neurais autonômicos modulam o sistema cardiorrespiratório durante o exercício. O primeiro é o sistema de comando central que envolve a regulação do mecanismo de *feedfoward* dos sistemas de locomoção, circulatório e circuitos ventilatórios através dos processos nervosos ocorridos no início do exercício (Krogh e Lindhard, 1913; Goodwin *et al.*, 1972). Esse mecanismo da resposta cardiovascular durante o trabalho muscular foi proposto Johansson (1895) citado por (Mitchell, 2012). Posteriormente, foi sugerido que os impulsos nervosos do córtex motor influenciariam a resposta cardiovascular (Krogh e Lindhard, 1913). O segundo mecanismos é composto por uma rede de reflexos que pode ativar circuitos cardiovasculares e ventilatórios bulbares através de sinais advindos da periferia, como os aferentes musculares dos tipos III e IV, que são ativados por *feedback* durante o exercício (Coote *et al.*, 1971). Essas aferências são definidas como ergorreceptores periféricos, pois são estimuladas pelo trabalho muscular, e podem ser subdivididos em mecanorreceptores e metaborreceptores. Evidências mostram a participação de ambos os mecanismos neurais nas respostas cardiovasculares e respiratórias ao exercício (Kaufman *et al.*, 2002).

Contudo, Nóbrega et al. demonstraram que os metabo e mecanorreceptores podem agir de forma mais rápida que o mecanismo de comando central, possibilitando o aumento da FC (Nóbrega *et al.*, 1994). Nesse experimento, dois indivíduos posicionavam-se em uma bicicleta dupla, mas apenas o indivíduo da posição posterior pedalava de forma ativa. O indivíduo do selim anterior tinha os pés fixos aos pedais,

mas não exercia força muscular durante o movimento. Independente de ter ocorrido contração muscular ou não, o aumento da FC foi similar entre os dois indivíduos.

Os mecanorreceptores estão localizados nas articulações e estimulam principalmente fibras aferentes mielinizadas tipo III que respondem principalmente a estímulos mecânicos. Essas fibras disparam no início da contração, logo sua ativação precede aquela de metaborreceptores e a sua taxa de disparo tende a se adaptar caso a tensão muscular seja mantida constante (Kaufman *et al.*, 2002).

Ao longo do exercício as alterações do fluxo sanguíneo muscular podem não ser suficientes para remover os subprodutos do metabolismo, tais como ácido lático, íons hidrogênio, adenosina, potássio, íons fosfato, ácido aracdônico, entre outros. Essas substâncias se acumulam com o aumento da intensidade do exercício e, quando a oferta de O_2 não supre as demandas metabólicas dos músculos em contração, os metaborreceptores são ativados. Uma vez ativadas, fibras aferentes não mielinizadas do tipo IV sensíveis aos metabólitos estimulam diretamente os nervos eferentes simpáticos. Isso induz aumento da ventilação pulmonar e vasoconstrição de órgãos menos solicitados durante o exercício (rins, fígado, estômago e intestino), direcionando um maior percentual do débito cardíaco para os músculos em contração. A estimulação das fibras aferentes tipo III e IV parece ser essencial para a resposta hemodinâmica normal ao exercício em indivíduos saudáveis. A maioria das fibras aferentes dos grupos III e IV ascendem na medula espinhal via corno dorsal. A medula espinhal provavelmente controla a resposta cardiovascular durante a ativação do mecano e metaborreflexo (Adreani *et al.*, 1997).

1.3 Avaliação da modulação autonômica cardíaca

A modulação autonômica cardíaca extrínseca pode ser avaliada através de métodos não-invasivos, simples e de fácil aplicação, como por exemplo, por meio da análise das variabilidades cardiovasculares, sendo: 1) variabilidade da pressão arterial sistólica (VPAS) e 2) variabilidade da frequência cardíaca (VFC).

A relevância clínica da VFC foi destacada por Hon e Lee (1963) na monitorização fetal. Posteriormente Wolf et al. (1978) demonstraram associação entre aumento do risco de mortalidade pós-infarto com redução da VFC. Alguns estudos

demonstraram que a diminuição da VFC está relacionada a maior índice de morbidade e mortalidade cardiovascular sugerindo a presença de disfunção fisiológica do indivíduo (Alonso *et al.*, 1998; Pumprla *et al.*, 2002; Sandercock *et al.*, 2005).

Além disso, as variabilidades cardiovasculares refletem uma interação de diversos fatores que envolvem a influência do SNA sobre o sistema cardiovascular, como por exemplo: estresse ambiental, mudanças posturais, efeito mecânico da respiração, bem como modulações autonômicas sobre a resistência vascular e o tônus venoso. Logo a capacidade de variar a PA e a FC tem o significado fisiológico de adaptar o sistema cardiovascular, momento a momento, às mais diversas situações cotidianas, desde o período de sono até a realização de um exercício físico.

A VPAS está relacionada com alterações estruturais nas artérias, particularmente na aorta e grandes vasos, ao refletir a atividade respiratória e atividade vasomotora (Hyndman *et al.*, 1971). A VFC descreve as oscilações dos intervalos entre os batimentos cardíacos consecutivos (intervalos de pulso), que estão relacionadas à modulação das atividades simpática e parassimpáticas (Task-Force, 1996). Durante a progressão do exercício, é descrito o aumento da VPAS e a redução da VFC. Segundo Task Force (1996), os principais mecanismos de controle cardiovascular envolvidos nesse processo são a ventilação pulmonar, o ritmo circadiano, a atividade barorreflexa, a termorregulação e o sistema renina-angiotensina (SRA).

A análise das variabilidades cardiovasculares pode ser realizada de duas formas. Primeiro, por meio do cálculo de índices estatísticos e geométricos (média e medidas de dispersão), os quais quantificam as oscilações dos intervalos de pulso em uma série temporal (parâmetros no domínio do tempo) de intervalos de pulso de origem sinusal. Segundo, por meio da análise do domínio da frequência. Nesta análise as diferenças funcionais entre os componentes do SNA (simpático e parassimpático) induzem diferentes padrões da VPAS e da VFC por meio da quantificação da densidade espectral de potência. Diversos estudos de variabilidade cardiovascular (Kinugasa e Hirayanagi, 1999; Crandall *et al.*, 2000; Pires *et al.*, 2013) utilizam a estimativa do espectro de potência, baseada em algorismos matemáticos, denominada transformada rápida de Fourier. Este método, considerado não-paramétrico, resulta em um gráfico com picos discretos e densidade espectral média de potência para cada componente específico de frequência por meio da decomposição das variabilidades cardiovasculares (sinal complexo) em componentes oscilatórios fundamentais (sinais simples). Por meio do gráfico é possível obter os valores dos componentes de ultra baixa (UBF), muito baixa

(MBF), baixa (BF) e alta frequência (AF) (Figura 1.1). O espectro de potência da VFC permite também calcular a razão entre os componentes de baixa e alta frequência (Razão BF/AF), como medida do balanço simpatovagal.

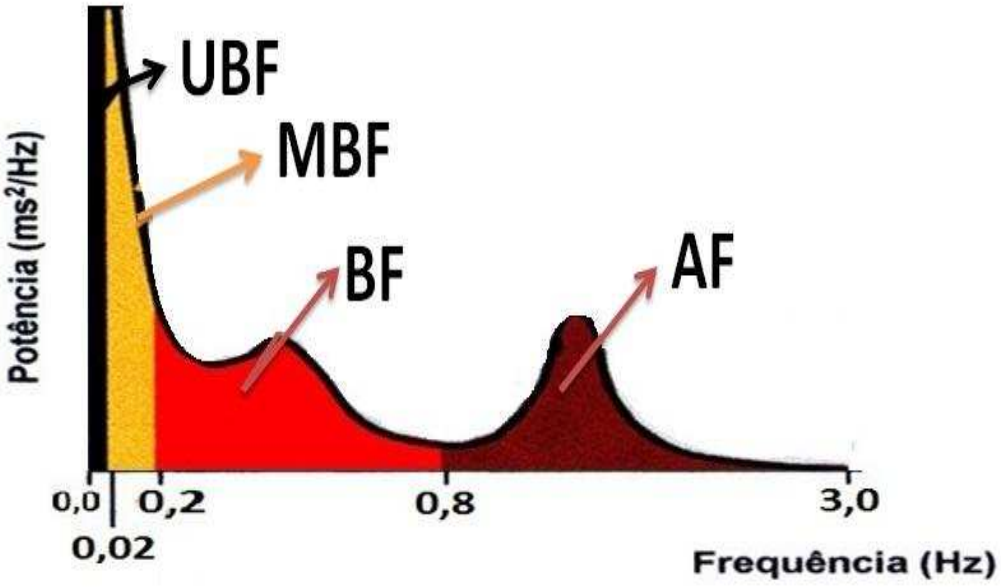


Figura 1.1. Figura representativa dos componentes oscilatórios fundamentais dos componentes das variabilidades cardiovasculares analisadas no domínio da frequência em ratos. UBF: Ultra baixa frequência; MBF: muito baixa frequência; BF: Baixa frequência; AF: Alta frequência.

Os parâmetros analisados no domínio do tempo são produzidos pelas modulações simpática e vagal cardíaca, demonstrando medidas de variabilidade total. Em relação à análise do domínio da frequência, cada um dos componentes oscilatórios da densidade espectral é influenciado por um sistema fisiológico. As Tabelas 1.1 e 1.2 descrevem os significados fisiológicos dos índices das variabilidades cardiovasculares nos domínios do tempo e da frequência.

Tabela 1.1. Significado fisiológico dos índices da variabilidade da pressão arterial sistólica nos domínios do Tempo e da Frequência (Radaelli *et al.*, 2005; Waki *et al.*, 2006; Yoshimoto *et al.*, 2011).

VARIABILIDADE DA PRESSÃO SISTÓLICA	
DOMÍNIO DO TEMPO	
Média (mmHg)	média da pressão arterial sistólica, produzida pelas modulações vagal e simpática cardíaca
Desvio padrão (mmHg)	desvio padrão da pressão arterial sistólica, produzido pelas modulações vagal e simpática cardíaca
Variância ($mmHg^2$)	variância da pressão arterial sistólica, produzida pelas modulações vagal e simpática cardíaca
DOMÍNIO DA FREQUÊNCIA	
Ultra baixa frequência ($mmHg^2$)	influenciada pelo ritmo circadiano
Muito baixa frequência ($mmHg^2$)	influenciada pela ação da atividade simpática vascular
Baixa frequência ($mmHg^2$)	influenciada pela ação da atividade simpática vascular
Alta frequência ($mmHg^2$)	influenciada pela atividade simpática cardíaca e atividade ventilatória

Tabela 1.2: Significado fisiológico dos índices da variabilidade da frequência cardíaca nos domínios do Tempo e da Frequência (Task-Force, 1996).

VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA CARDÍACA	
DOMÍNIO DO TEMPO	
Média (ms)	média do intervalo do pulso, produzida pelas modulações vagal e simpática cardíaca
Desvio padrão (ms)	desvio padrão do intervalo do pulso, produzido pelas modulações vagal e simpática cardíaca
Variância (ms):	variância do intervalo do pulso, produzida pelas modulações vagal e simpática cardíaca
RMSSD (ms)	raiz média quadrática das diferenças dos intervalos de pulso sucessivos, produzidos predominantemente pela modulação vagal cardíaca
DOMÍNIO DA FREQUÊNCIA	
Ultra baixa frequência (ms^2)	influenciada pelo ritmo circadiano e controle neuroendócrino e produzidas pela ação conjunta das alças simpática e vagal.
Muito baixa frequência (ms^2)	influenciada pela ação da termorregulação e sistema renina angiotensina, e produzidas pela ação conjunta das alças simpática e vagal.
Baixa frequência (ms^2)	influenciada pela ação dos barorreceptores, e produzidas pela ação conjunta das alças simpática e vagal.
Alta frequência (ms^2)	coordenadas pelo ritmo respiratório e produzidas predominantemente pela modulação autonômica cardíaca
Razão Baixa/Alta frequência	quantifica as variações existentes nos componentes de alta e baixa frequência e reflete o balanço simpato-vagal cardíaco.

1.4 Modulação autonômica cardíaca e termorregulação

Como supracitado nos tópicos anteriores do presente estudo, a termorregulação e a regulação cardiovascular têm uma relação estreita. Com relação, especificamente à modulação autonômica cardíaca, a literatura sugere que a banda MBF da VFC seja influenciada pela termorregulação e SRA (Akselrod *et al.*, 1981), e resulta da ação conjunta das alças simpática e vagal do SNA. Taylor et al. (1998) destacaram a contribuição do SRA e uma maior influência da atividade simpática no componente nessa mesma banda de frequência da VFC. Já a medida da modulação a partir da VPAS reflete as alterações vasomotoras, influenciadas por mecanismos cardiovasculares e termorregulatórios (Hyndman *et al.*, 1971). Kinugasa e Hirayanagi (1999) verificaram a influência da exposição às temperaturas ambientais altas (40 e 60 ºC), sobre as variabilidades cardiovasculares de humanos em repouso, principalmente, nos componentes MBF e BF da VPAS e da Razão BF/AF da VFC.

O estudo de Crandall et al. (Crandall *et al.*, 2000) demonstrou que a elevação da T_{pele} por aquecimento passivo diminuiu a AF da VPAS e BF da VFC, bem como aumentou a razão BF/AF da VFC. Os autores atribuíram esses resultados a uma redução da atividade vagal com o aquecimento (Crandall *et al.*, 2000). Além disso, outros estudos demonstraram alterações cardiovasculares devido à alterações na T_{int}. Mowery et al. (2011) destacaram a influência da T_{int} em indivíduos no repouso, ao relatar diminuição dos valores de VFC (índice SDNN do domínio do tempo) em resposta à hipotermia e à hipertermia (35º e 40ºC, respectivamente) comparada à condição de normotermia (37ºC) em humanos.

Em estudos com animais, Masset et al. (2000) relataram que o aumento da T_{int} para 41°C induziu um aumento da PA em ratos. Saeki et al. (2000) demonstraram que um aumento da T_{amb} de 36ºC para 41ºC, diminuiu a contratilidade do ventrículo esquerdo em cães, alterando as resposta da modulação autonômica.

Com relação ao exercício físico em ratos, estudos anteriores (Lima, 2011; Pires *et al.*, 2013) demonstraram alterações das variabilidades cardiovasculares durante o exercício, tanto em ambiente temperado (25º C) quanto em ambiente quente (35 ºC).

Uma vez que o exercício físico e a exposição passiva ao ambiente quente são capazes de alterar a resposta das variabilidades cardiovasculares, o presente estudo testou a hipótese de que a hipertermia induzida por exercício físico e por exposição ao ambiente quente seriam capazes de alterar a modulação autonômica cardíaca em ratos de forma equivalente.

2 . OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral:

- Comparar as alterações na modulação autonômica cardíaca em duas situações experimentais: por hipertermia induzida pelo exercício físico e por exposição passiva ao ambiente quente.

2.2. Objetivos específicos:

Comparar as respostas das seguintes variáveis fisiológicas causadas pela hipertermia induzida pelo exercício físico e pela exposição passiva ao ambiente quente:

- a atividade simpática cardíaca;
- a atividade parassimpática cardíaca;
- as bandas de muito baixa e baixa frequência da variabilidade da pressão arterial sistólica;
- a banda de muito baixa frequência da variabilidade da frequência cardíaca;
- a sensibilidade barorreflexa.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Animais

Ratos Wistar com idade de 13 ± 1 semanas, e massa corporal entre 328 ± 6 gramas, realizaram duas sessões experimentais: hipertermia induzida por exercício físico (HE) e hipertermia passiva (HP) por meio de exposição a um ambiente quente. Antes das cirurgias os animais foram alojados coletivamente em caixas de polietileno, com até 5 ratos por caixa (35x50x17 cm). Logo após a cirurgia os animais foram alojadas individualmente. As caixas foram limpas e a maravalha trocada a cada 3 dias. A temperatura da sala foi mantida em ambiente de 24 ± 2°C, sob um ciclo claro/escuro de 12/12h e os ratos tiveram livre acesso à ração e à água.

Os animais foram provenientes do Biotério do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de Viçosa (UFV). Todos os procedimentos foram realizados de acordo com os Princípios Éticos na experimentação animal, elaborados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA). Durante os experimentos, houve acompanhamento de um médico veterinário (CRMV-SP: 26410). O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética de Uso de Animais (CEUA)/UFV (processo nº 08/2014).

3.2 Número de animais

O cálculo amostral foi feito a partir da seguinte fórmula (Armitage e Berry, 1987):

$$N = 2\,[(Z_{2\alpha}+Z_{2\beta})\sigma/\delta]$$

Onde:

2α: nível de significância;

2β: 1 – poder do teste;

$Z_{2\alpha}$: quartil $\alpha/2$ da distribuição normal;

$Z_{2\beta}$: quartil $\beta/2$ da distribuição normal;

σ: desvio padrão;

δ: diferença a ser detectada.

Para realizar o cálculo, utilizamos um estudo previamente publicado (Prímola-Gomes *et al.*, 2007) como referência para os valores de média e erro padrão da variável adotada como principal no presente estudo, a T_{int}. O nível de significância adotado foi de 5% e o poder do teste de 90%. Desta forma, foi obtido um número de 8 ratos, sendo que os mesmos 8 ratos passaram pelas duas situações experimentais

O número total de ratos utilizados durante os experimentos foi de 31, destes:

- 8 animais foram utilizados na coleta de dados;
- 2 animais foram utilizados para testes inicias na padronização dos experimentos;
- 1 animal morreu durante a cirurgia;
- 2 animais morreram após as cirurgias;
- 5 animais não completaram o protocolo experimental;
- 5 animais obtiveram coletas em somente uma das sessões experimentais;
- 5 animais não apresentaram um sinal de qualidade para análise dos parâmetros cardiovasculares nas duas sessões experimentais;
- 3 animais foram excluídos por não passarem pelo critério de seleção adotado.

3.3 Delineamento experimental

O delineamento experimental foi realizado com 8 ratos Wistar que foram submetidos aos experimentos de HE e HP. As seguintes variáveis foram registradas durante o repouso e o aquecimento nas sessões experimentais: temperatura intraperitoneal (Tip), temperatura da pele da cauda (T_{cauda}), temperatura ambiente (T_{amb}) e pressão arterial pulsátil (PAP).

Foi utilizado o seguinte delineamento experimental (Figura 3.1): 48 horas após a seleção, os animais foram familiarizados ao exercício em esteira rolante e à permanência no interior da caixa de aquecimento por 5 dias consecutivos. Passadas 48 horas houve a realização do teste progressivo até a fadiga para mensuração da velocidade máxima de corrida ($V_{máx}$). A Vmáx foi usada para calcular a velocidade de

corrida dos animais na sessão de HE. Dois dias após foram realizadas as cirurgias de implante de cateter arterial e do sensor de temperatura intraperitoneal. Após a recuperação das cirurgias foram realizadas a primeira e a segunda sessão experimental, com intervalo de 48 horas entre as sessões. As sessões experimentais de HE e HP foram realizadas de forma randomizada.

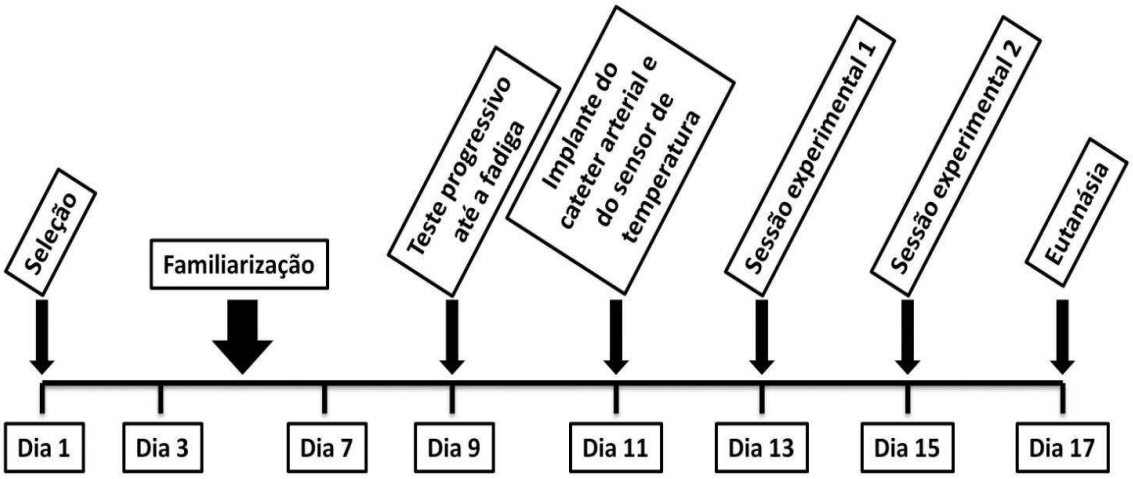


Figura 3.1. Linha do tempo referente ao delineamento experimental.

3.4 Seleção dos animais

Primeiramente era esperado que os animais atingissem uma massa corporal mínima de 300 gramas para serem submetidos ao protocolo experimental. Uma vez que essa massa corporal foi atingida, os animais foram submetidos a corrida durante 5 minutos na esteira rolante para pequenos animais (Panlab, Harvard Apparaturs, Espanha) com velocidade constante de 15 m/min e inclinação mantida em 5%. Os animais que completaram esse protocolo foram selecionados para os experimentos.

3.5 Familiarização ao exercício na esteira rolante e à permanência no interior caixa de indução à hipertemia passiva

Os animais foram familiarizados a correr em uma esteira para pequenos animais, durante cinco dias consecutivos (5 min/dia; 5% de inclinação; estímulo de 0,5 mA) e com aumentos diários da velocidade da esteira (10 m/min nos dois primeiros dias, 11 m/min no terceiro dia, 13 m/min no quarto dia e 15 m/min no último dia). A intensidade e duração do exercício durante a semana de adaptação ao exercício foram baixas, de forma a não provocar nos animais qualquer adaptação referente ao treinamento aeróbico. Durante as sessões, os ratos foram estimulados a correr por meio de uma corrente elétrica (0,5 mA) sempre que tocassem ou permanecessem sobre a grade de estímulo elétrico localizada na parte posterior da esteira.

Neste mesmo momento os animais foram familiarizados a permanecerem, durante 5 min/dia em uma caixa acrílica (23 cm x 26 cm, profundidade: 21 cm), que foi posteriormente utilizada na sessão HP. A adaptação em ambos os aparatos experimentais, foi realizada em um ambiente temperado, com T_{amb} de 25°C.

Nos três dias finais do período de familiarização para ambas as situações, os ratos permaneceram com o sensor de temperatura (Yellow Spring Instruments - YSI) fixado à cauda para minimizar o estresse do animal nos dias dos experimentos. Estes procedimentos foram realizados para que os animais permanecessem no interior da caixa de aquecimento e corressem na direção correta sem ficarem emaranhados com o sensor de temperatura da cauda, durante as sessões experimentais.

3.6 Teste progressivo até a fadiga

Inicialmente, a velocidade da esteira foi mantida em 10 m/min e, a cada 3 minutos, esta foi aumentada em 1 m/min, até que os ratos não conseguissem mais acompanhar a velocidade da esteira. A fadiga foi determinada como o momento em que o rato não conseguia manter a corrida de acordo com a velocidade da esteira e se submetia ao estímulo elétrico por, pelo menos, 10 segundos (Lima *et al.*, 2001; Rodrigues *et al.*, 2004). A inclinação da esteira foi mantida em 5% durante todo o teste

e o estímulo elétrico foi mantido em 0,5 mA. A partir destes resultados foi calculada a intensidade percentual do exercício máximo a ser realizado na sessão HE.

3.7 Implante do cateter arterial e do sensor de temperatura intraperitoneal.

Foram implantados cirurgicamente um cateter para a medida da PAP dos ratos e um sensor de temperatura (E-Mitter, modelo ER4000, Mini-Mitter, EUA) para a medida da T_{ip}. Estes procedimentos cirúrgicos foram realizados sob efeito anestésico inalatório (isoflurano 1,5% e oxigênio 100% em fluxo constante de 1L/min; Isoflurano, BioChimico, RJ, Brasil). Todos os materiais utilizados nas cirurgias foram previamente esterilizados. Durante a cirurgia os animais permaneciam sobre uma caixa de plástico aquecida por meio de luvas de látex descartáveis preenchidas com água quente com objetivo de evitar hipotermia dos animais, causa comum de morte durante a realização de cirurgias em ratos.

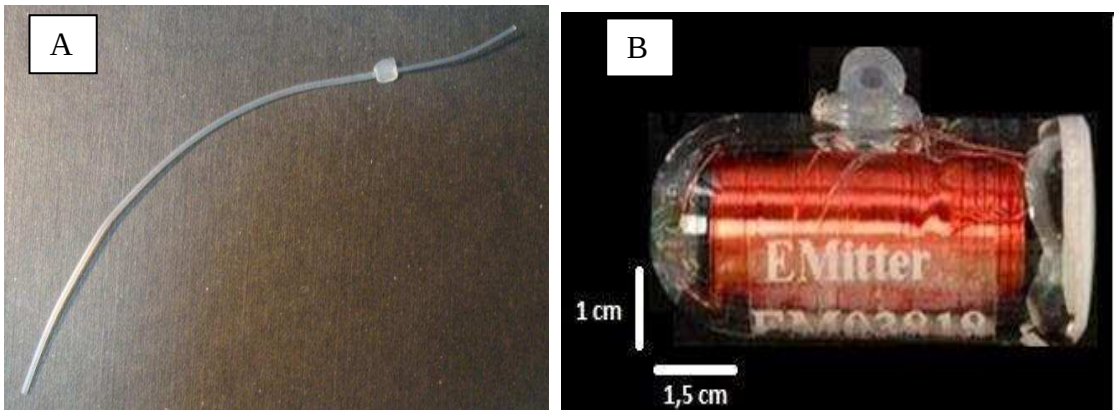


Figura 3.2. Figura representativa dos materiais inseridos na artéria e na cavidade abdominal dos animais. O cateter confeccionado com tubos de polietileno foi inserido na artéria carótida esquerda para medir a pressão arterial pulsátil (A). O sensor foi inserido na cavidade abdominal para medir a temperatura intraperitoneal (B).

O cateter utilizado foi confeccionado com tubos de polietileno de diâmetros (PE50 e PE10; Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ, USA) e comprimentos diferentes (7 e 4 cm) soldados por aquecimento (Painel A da Figura 3.2). O cateter foi preenchido com salina heparinizada, constituída de 0,1 mL de heparina sódica 5000 UI/ml (Hemofol®, Cristália, RJ, Brasil) diluída em 20 mL de salina, para evitar obstrução da sua luz e uma de suas extremidades foi ocluída com um pino de aço. Após a tricotomia

e assepsia das regiões dorsal e ventral da região do pescoço, foi feita uma incisão de aproximadamente 0,7 cm neste local, possibilitando o acesso à artéria carótida esquerda. Em seguida, foi feita uma incisão na artéria e o cateter foi inserido na aorta ascendente (3 cm a partir da incisão). Após a depilação da região cervical dorsal do animal o cateter foi exteriorizado na região cervical e fixado à pele por meio de um fio de sutura, permitindo livre movimentação do animal. O cateter foi lavado e preenchido diariamente com salina heparinizada.

Imediatamente após a canulação arterial, foi implantado um sensor de temperatura na cavidade peritoneal (Painel B da Figura 3.2). Após tricotomia e assepsia da região abdominal, uma incisão ventral de aproximadamente 2 cm foi realizada na pele, seguida de outra incisão na linha alba do músculo reto abdominal, possibilitando o acesso à cavidade peritoneal. O sensor foi inserido na cavidade intraperitoneal e fixado à fáscia muscular do músculo reto abdominal. Em seguida, o músculo e a pele foram suturados.

Ao término das cirurgias, os animais receberam dose única de antibiótico (Chemitril® Injetável 2,5%, Chemitec, SP, Brasil,) no volume de 0,1 mL via intramuscular e três doses de analgésico subcutâneo (Tramadol, 4 $mg.kg^{-1}$ a cada 8 horas), por meio de uma seringa de 1 ml.

3.8 Hipertermia induzida por exercício físico e por exposição passiva ao ambiente quente

No início dos experimentos foram realizados dois testes pilotos para padronização dos protocolos experimentais. No dia dos experimentos, a T_{amb} foi mantida em ~25 °C. Um termossensor (YSI Inc., Dayton, OH, USA) foi fixado na base da cauda (~1 cm) com esparadrapo micropore e o cateter arterial foi conectado a um transdutor de pressão MLT0699 (ADInstruments, Austrália), acoplado a um sistema de aquisição de dados analógico/digital PowerLab/400. O transdutor de pressão foi calibrado imediatamente antes de todos os experimentos.

Os dados de repouso foram coletados por um período de 60 minutos, com os animais permanecendo em uma caixa de polietileno (Painel A da Figura 4). Esse período permitiu a estabilização dos parâmetros termorregulatórios e cardiovasculares.

Na sessão HE, os animais foram submetidos ao exercício em esteira rolante com a velocidade constante mantida em 80% da $V_{máx}$ alcançada durante o TPF para cada animal (Painel B da Figura 3.3). A temperatura no interior da caixa de acrílico que envolve a esteira ($T_{esteira}$) foi mantida ~25 °C e ~50% de umidade relativa do ar (URA). Este ambiente foi considerado como temperado em experimentos prévios (Lima *et al.*, 2013). A corrida foi realizada até que o animal aumentasse 2 ºC de T_{int} em relação ao último valor registrado no repouso.

Na sessão HP, após os 60 minutos de repouso, os animais foram deslocados para uma caixa acrílica, pré-aquecida a 35 ºC e ~50% de URA. Essa temperatura foi alcançada por meio de uma corrente de ar constante, gerada por um aquecedor portátil (Britania AB1100, BRA) (Painel C da Figura 3.3). Durante o experimento, a corrente de ar foi mantida, por meio do mesmo aquecedor, com o objetivo de manter a temperatura da caixa de acrílica aquecida (T_{caixa}) em 35 °C enquanto os animais permanecessem no interior da mesma (Painel D da Figura 3.3). Quando os ratos atingiram 2 °C de aumento na T_{int} (a partir do último valor registrado no repouso) em decorrência à exposição ao calor foram retirados da caixa aquecida.

A magnitude do aumento de T_{int} utilizada em ambos os protocolos foi selecionada de acordo com estudo anterior (Prímola-Gomes *et al.*, 2007), de maneira que houvesse um aumento significativo dessa temperatura nos ratos.

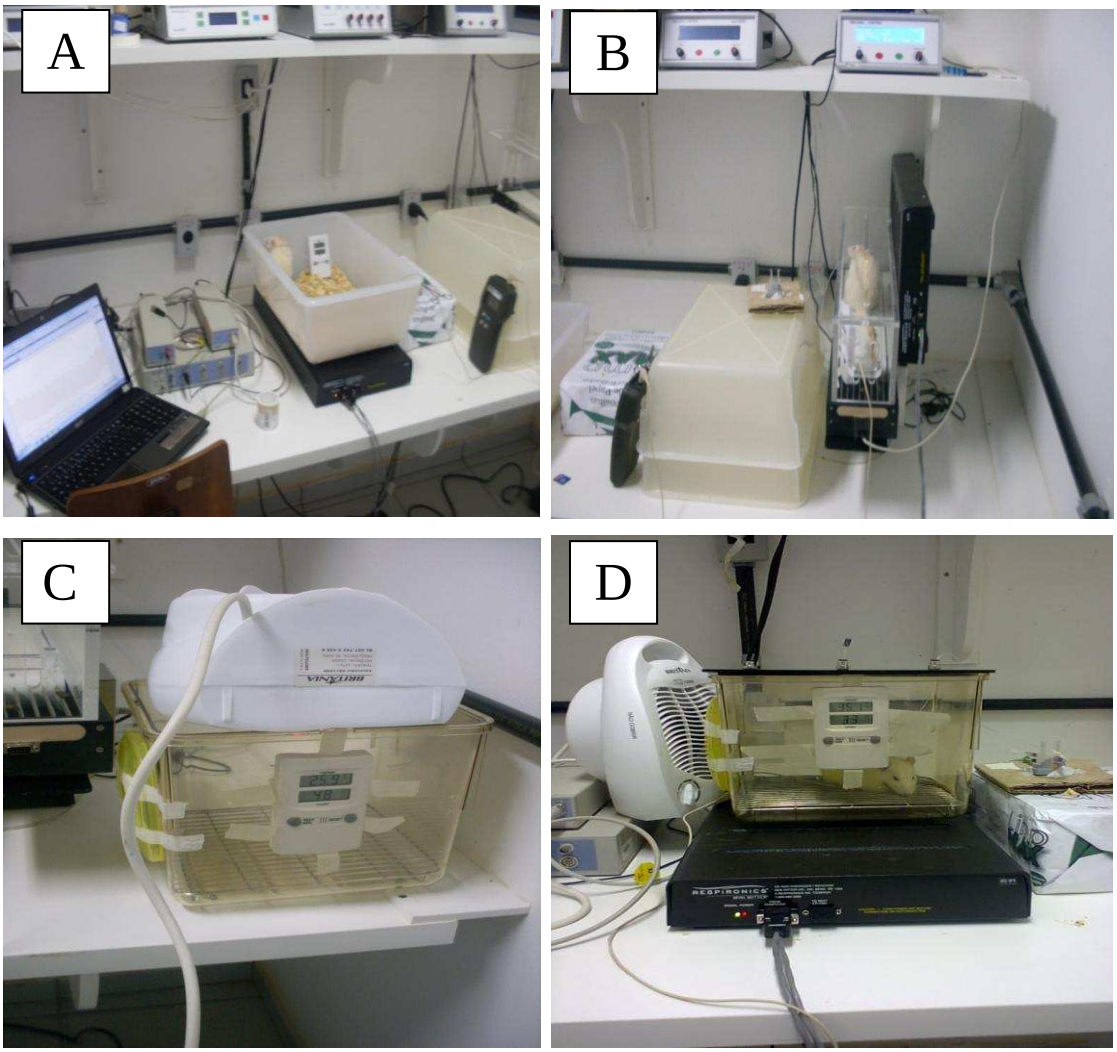


Figura 3.3 – Imagens representativas das sessões experimentais. Inicialmente os ratos permaneceram em repouso por 60 min. a uma temperatura ambiente de ~25ºC em ambas sessões experimentais (A), na sequência foram submetidos à hipertermia induzida por exercício (HE) (B) ou por meio de caixa pré aquecida a 35 ºC (C) à hipertermia passiva (HP) (D).

3.9 Eutanásia

Após os experimentos, os animais foram eutanasiados por meio de sobredose de analgésico inalatório (isoflurano 3% e oxigênio 100% em fluxo constante de 1 L/min) até a perda do reflexo corneal e, na sequência, o procedimento foi completado por meio de inalação de CO_2. Foi realizada a retirada dos sensores de temperatura e a verificação de sinais de infecção, inflamação e aderências entre as vísceras e o sensor, sendo que esses sinais não foram detectados em quaisquer dos animais.

3.10 Medidas e cálculos

3.10.1 Temperatura intraperitoneal (T_{ip})

A temperatura interna foi medida a cada 15 segundos por meio de telemetria, a partir do implante intraperitoneal de sensor de temperatura, na cavidade peritoneal. A T_{ip} foi utilizada como um índice da T_{int}.

3.10.2 Temperatura da pele da cauda (T_{cauda})

A T_{cauda} do rato foi registrada a cada minuto por meio de um sensor de temperatura (YSI Inc., Dayton, OH, USA). O sensor foi posicionado na porção lateral a ~1 cm da base da cauda utilizando-se um esparadrapo micropore.

A posição do sensor foi escolhida a partir dos resultados descritos por Young e Dawson (Young e Dawson, 1982), que descreveram que quanto mais próximo da base da cauda o sensor é posicionado, maior é a sensibilidade da medida da temperatura da pele às alterações do fluxo sanguíneo no local. Além disso, por meio da técnica de angiografia, foi demonstrado que o retorno venoso a partir da cauda é realizado principalmente pelas veias laterais (Young e Dawson, 1982).

3.10.3 Temperatura ambiente da sala (T_{sala}), Temperatura esteira ($T_{esteira}$), Temperatura da caixa acrílica (T_{caixa})

A T_{sala} e a URA da salaforam medida a cada 5 minutos, por meio de um termo-higrômetro (HT-7429, Hygro-Therm, Brasil). A $T_{esteira}$, T_{caixa} e a URA desses locais foram medidas a cada 5 minutos, por meio de um termo-higrômetro (HT-7429, Hygro-Therm, Brasil) acoplado à parte médio-superior da esteira e à parte lateral da caixa acrílica, respectivamente.

3.10.4 Análise da variabilidade da pressão arterial sistólica (VPAS) e da frequência cardíaca (VFC)

3.10.4.1 Aquisição dos parâmetros cardiovasculares

Durante os experimentos, a pressão arterial pulsátil (PAP) dos ratos foi medida continuamente e amostrada em uma taxa fixada em 2 kHz (Figura 3.4). O sinal foi processado por um software (LabCHART versão 7) e armazenado em disco rígido sob a forma de arquivo de dados.

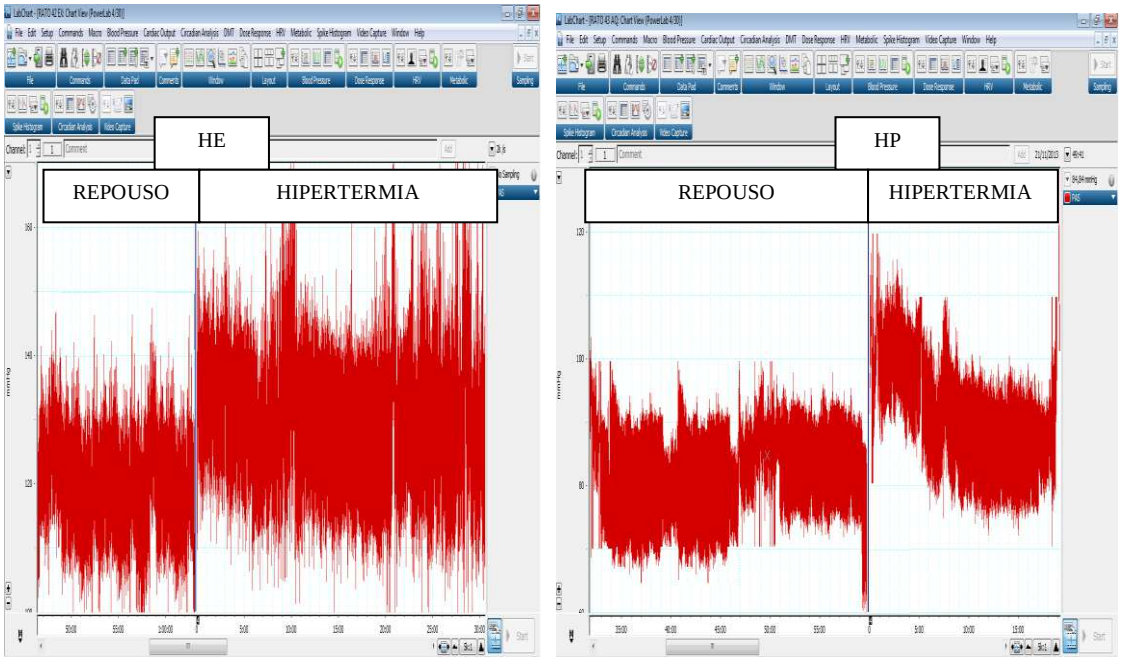


Figura 3.4. Registro da pressão arterial pulsátil (software LabCHART 7) de um rato durante o repouso e a indução à hipertermia em cada sessão experimental. A frequência de amostragem do software foi mantida em 2 kHz. HE: Hipertermia induzida por exercício; HP: Hipertermia passiva.

3.10.4.2 Processamento do arquivo de dados cardiovasculares

Os valores da PAS, PAD, PAM e FC foram identificados a cada batimento usando o software Labchart 7 (ADInstruments, Australia) (Figuras 3.5 e 3.6).

Posteriormente esses dados foram exportados para o software Microsoft Excel 2007, para exclusão de valores espúrios, ou seja, valores que forem maiores do que a média, acrescidos ou diminuídos dois desvios padrão. Uma vez detectados, estes foram substituídos pela média do trecho analisado. Após a exclusão dos valores espúrios, o tacograma foi obtido (conjunto de intervalos consecutivos entre dois picos sistólicos) (Figura 3.7). Em seguida foram obtidos os valores de duplo produto (DPT), com objetivo de avaliar o trabalho do miocárdio, utilizando os valores de PAS e FC.

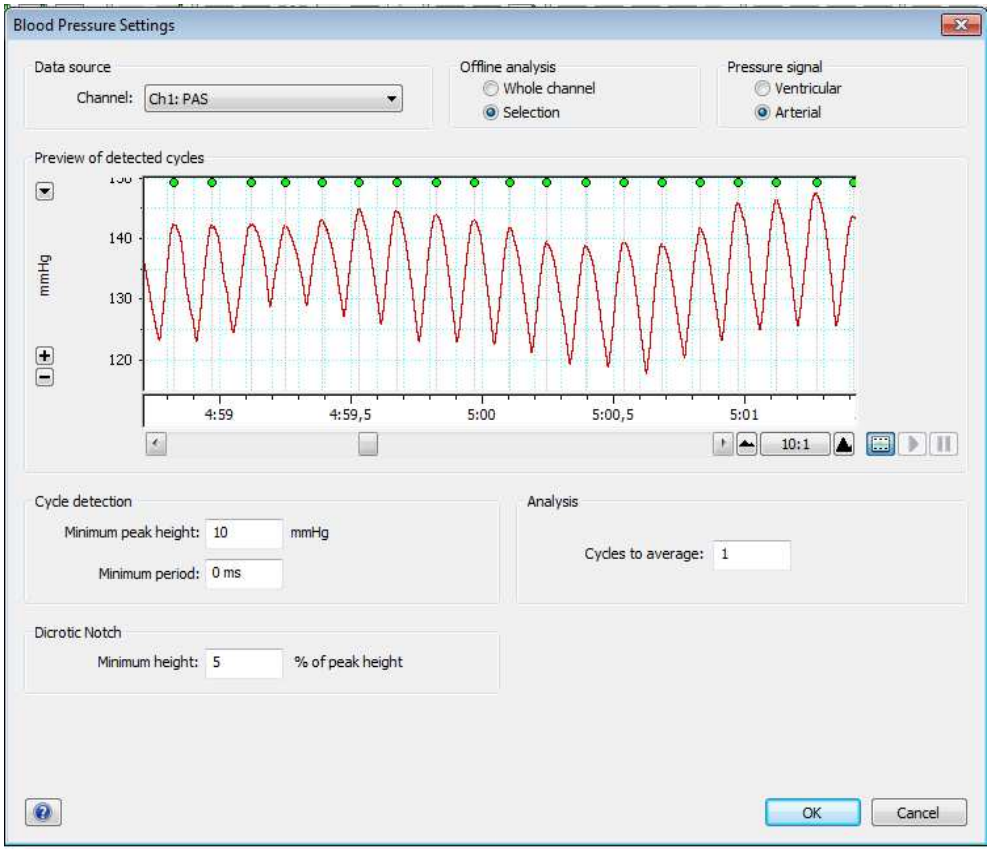
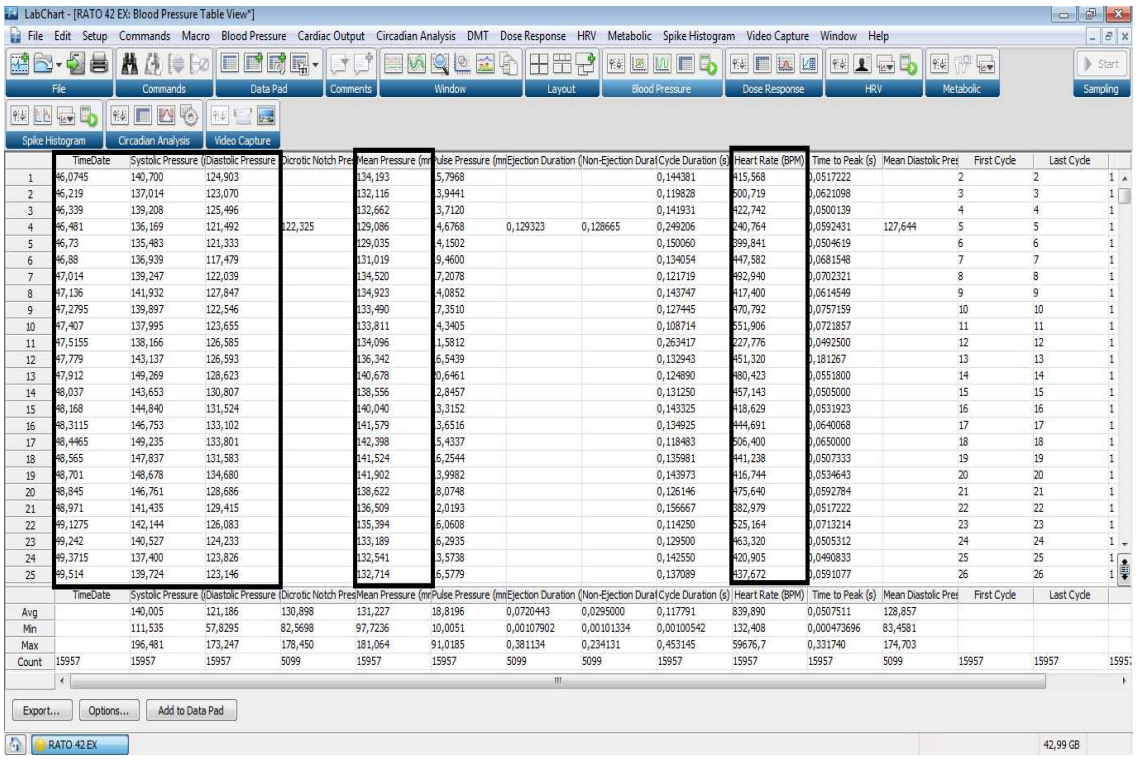
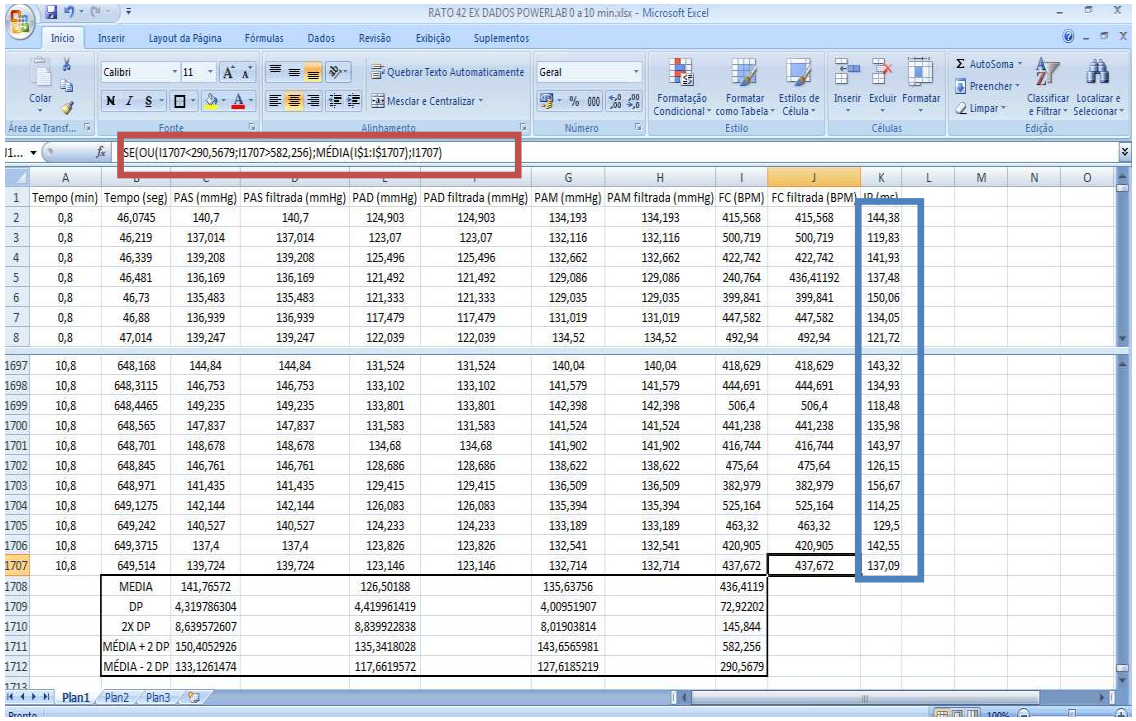


Figura 3.5. Pressão arterial pulsátil em função do número de amostras. O software LabChart 7 detectou os picos sistólicos (pontos em verde) no registro da pressão arterial (em vermelho), os quais foram utilizados para o cálculo de pressão arterial sistólica, diastólica, média e frequência cardíaca. Os dados são referentes à análise de um rato durante a sessão de hipertermia induzida por exercício.



	TimeDate	Systolic Pressure (I	Diastolic Pressure	Dicrotic Notch Pres	Mean Pressure (mr	Pulse Pressure (mm	Ejection Duration (	Non-Ejection Dura	Cycle Duration (s)	Heart Rate (BPM)	Time to Peak (s)	Mean Diastolic Pres	First Cycle	Last Cycle	
1	46,0745	140,700	124,903		134,193	5,7968			0,144381	415,568	0,0517222		2	2	1
2	46,219	137,014	123,070		132,116	3,9441			0,119828	500,719	0,0621098		3	3	1
3	46,339	139,208	125,496		132,662	3,7120			0,141931	422,742	0,0500139		4	4	1
4	46,481	136,169	121,492	122,325	129,086	4,6768	0,129323	0,128665	0,249206	240,764	0,0592431	127,644	5	5	1
5	46,73	135,483	121,333		129,035	4,1502			0,150060	399,841	0,0504619		6	6	1
6	46,88	136,939	117,479		131,019	9,4600			0,134054	447,582	0,0681548		7	7	1
7	47,014	139,247	122,039		134,520	7,2078			0,121719	492,940	0,0702321		8	8	1
8	47,136	141,932	127,847		134,923	4,0852			0,143747	417,400	0,0614549		9	9	1
9	47,2795	139,897	122,546		133,490	7,3510			0,127445	470,792	0,0757159		10	10	1
10	47,407	137,995	123,655		133,811	4,3405			0,108714	551,906	0,0721857		11	11	1
11	47,5155	138,166	126,585		134,096	1,5812			0,263417	227,776	0,0492500		12	12	1
12	47,779	143,137	126,593		136,342	6,5439			0,132943	451,320	0,181267		13	13	1
13	47,912	149,269	128,623		140,678	0,6461			0,124890	480,423	0,0551800		14	14	1
14	48,037	143,653	130,807		138,556	2,8457			0,131250	457,143	0,0505000		15	15	1
15	48,168	144,840	131,524		140,040	3,3152			0,143325	418,629	0,0531923		16	16	1
16	48,3115	146,753	133,102		141,579	3,6516			0,134925	444,691	0,0640068		17	17	1
17	48,4465	149,235	133,801		142,398	5,4337			0,118483	506,400	0,0650000		18	18	1
18	48,565	147,837	131,583		141,524	6,2544			0,135981	441,238	0,0507333		19	19	1
19	48,701	148,678	134,680		141,902	3,9982			0,143973	416,744	0,0534643		20	20	1
20	48,845	146,761	128,686		138,622	8,0748			0,126146	475,640	0,0592784		21	21	1
21	48,971	141,435	129,415		136,509	2,0193			0,156667	382,979	0,0517222		22	22	1
22	49,1275	142,144	126,083		135,394	6,0608			0,114250	525,164	0,0713214		23	23	1
23	49,242	140,527	124,233		133,189	6,2935			0,129500	463,320	0,0505312		24	24	1
24	49,3715	137,400	123,826		132,541	3,5738			0,142550	420,905	0,0490833		25	25	1
25	49,514	139,724	123,146		132,714	6,5779			0,137089	437,672	0,0591077		26	26	1
	TimeDate	Systolic Pressure (I	Diastolic Pressure	Dicrotic Notch Pres	Mean Pressure (mr	Pulse Pressure (mm	Ejection Duration (	Non-Ejection Dura	Cycle Duration (s)	Heart Rate (BPM)	Time to Peak (s)	Mean Diastolic Pres	First Cycle	Last Cycle	
Avg		140,005	121,186	130,898	131,227	18,8196	0,0720443	0,0295000	0,117791	839,890	0,0507511	128,857			
Min		111,535	57,8295	82,5698	97,7236	10,0051	0,00107902	0,00101334	0,00100542	132,408	0,000473696	83,4581			
Max		196,481	173,247	178,450	181,064	91,0185	0,381134	0,234131	0,453145	59676,7	0,331740	174,703			
Count	15957	15957	15957	5099	15957	15957	5099	5099	15957	15957	15957	5099	15957	15957	15957

Figura 3.6. Valores de pressão arterial sistólica, diastólica, média e frequência cardíaca (Em preto) ao longo do tempo obtidos a partir da detecção dos picos sistólicos no registro da pressão arterial pulsátil e plotados pelo software LabChart 7. Os dados são referentes à análise de um rato durante a sessão de hipertermia induzida por exercício.



	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O
1	Tempo (min)	Tempo (seg)	PAS (mmHg)	PAS filtrada (mmHg)	PAD (mmHg)	PAD filtrada (mmHg)	PAM (mmHg)	PAM filtrada (mmHg)	FC (BPM)	FC filtrada (BPM)	IP (ms)				
2	0,8	46,0745	140,7	140,7	124,903	124,903	134,193	134,193	415,568	415,568	144,38				
3	0,8	46,219	137,014	137,014	123,07	123,07	132,116	132,116	500,719	500,719	119,83				
4	0,8	46,339	139,208	139,208	125,496	125,496	132,662	132,662	422,742	422,742	141,93				
5	0,8	46,481	136,169	136,169	121,492	121,492	129,086	129,086	240,764	436,41192	137,48				
6	0,8	46,73	135,483	135,483	121,333	121,333	129,035	129,035	399,841	399,841	150,06				
7	0,8	46,88	136,939	136,939	117,479	117,479	131,019	131,019	447,582	447,582	134,05				
8	0,8	47,014	139,247	139,247	122,039	122,039	134,52	134,52	492,94	492,94	121,72				
1697	10,8	648,168	144,84	144,84	131,524	131,524	140,04	140,04	418,629	418,629	143,32				
1698	10,8	648,3115	146,753	146,753	133,102	133,102	141,579	141,579	444,691	444,691	134,93				
1699	10,8	648,4465	149,235	149,235	133,801	133,801	142,398	142,398	506,4	506,4	118,48				
1700	10,8	648,565	147,837	147,837	131,583	131,583	141,524	141,524	441,238	441,238	135,98				
1701	10,8	648,701	148,678	148,678	134,68	134,68	141,902	141,902	416,744	416,744	143,97				
1702	10,8	648,845	146,761	146,761	128,686	128,686	138,622	138,622	475,64	475,64	126,15				
1703	10,8	648,971	141,435	141,435	129,415	129,415	136,509	136,509	382,979	382,979	156,67				
1704	10,8	649,1275	142,144	142,144	126,083	126,083	135,394	135,394	525,164	525,164	114,25				
1705	10,8	649,242	140,527	140,527	124,233	124,233	133,189	133,189	463,32	463,32	129,5				
1706	10,8	649,3715	137,4	137,4	123,826	123,826	132,541	132,541	420,905	420,905	142,55				
1707	10,8	649,514	139,724	139,724	123,146	123,146	132,714	132,714	437,672	437,672	137,09				
1708		MEDIA	141,76572		126,50188		135,63756		436,4119						
1709		DP	4,319786304		4,419961419		4,00951907		72,92202						
1710		2X DP	8,639572607		8,839922838		8,01903814		145,844						
1711		MÉDIA + 2 DP	150,4052926		135,3418028		143,6565981		582,256						
1712		MÉDIA - 2 DP	133,1261474		117,6619572		127,6185219		290,5679						

Figura 3.7. Exclusão e substituição de valores espúrios de pressão arterial sistólica, diastólica, média e frequência cardíaca pela média do trecho analisado por meio da fórmula destacada em vermelho. Destacado em preto, está o valor do intervalo de pulso obtido a partir dos valores de frequência cardíaca filtrada. Os dados são referentes à análise de um rato durante a sessão de hipertermia induzida por exercício.

Os valores da PAS e dos intervalos entre os picos sistólicos a cada batimento, ou intervalos de pulso (IP) foram gerados em um arquivo do formato .txt. Esses arquivos foram utilizados posteriormente, para a análise das variabilidades cardiovasculares do domínio do tempo e no domínio da frequência (Figura 3.8).

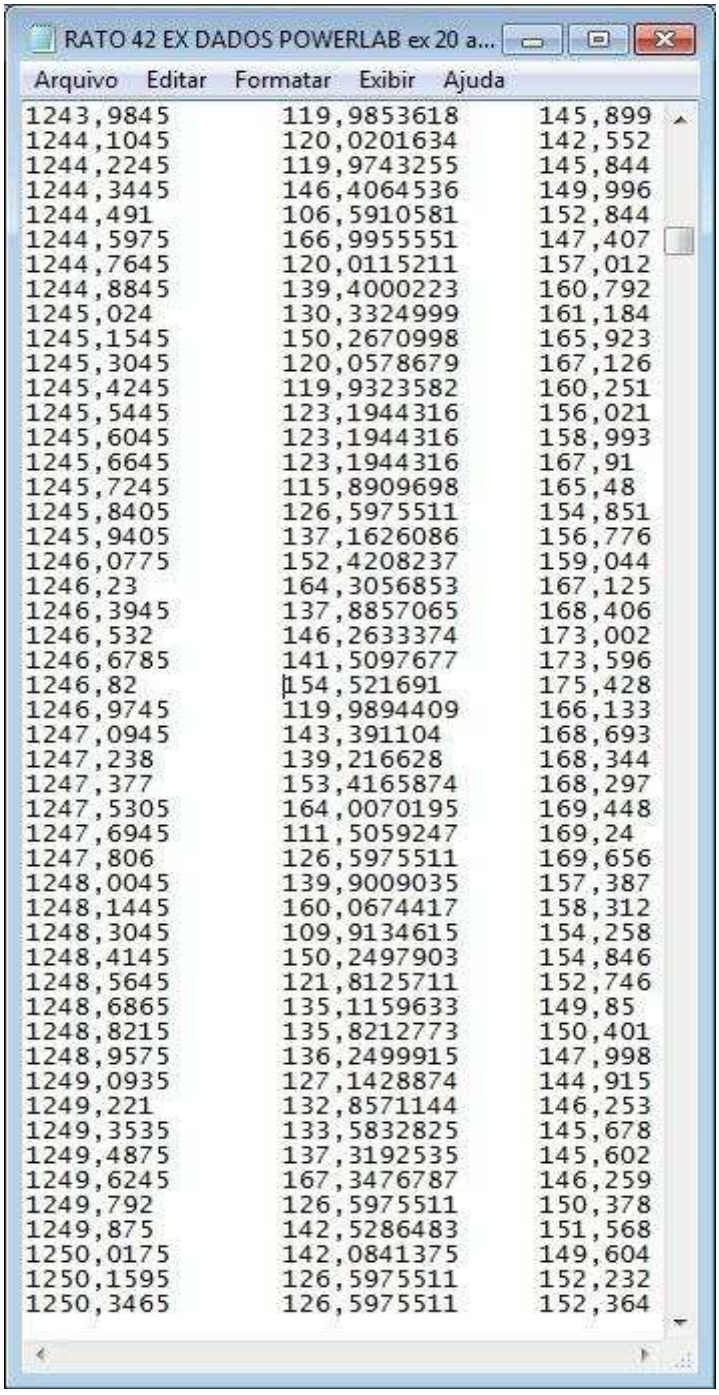


Figura 3.8. Arquivo com formato .txt gerado pelo software Microsoft Excel 2007 a partir do registro da pressão arterial pulsátil. A coluna da esquerda representa o tempo, a coluna do meio representa o intervalo entre os picos sistólicos (ms) e a coluna da direita os valores da pressão arterial sistólica (mmHg). Os dados são referentes à análise de um rato durante a sessão de hipertermia induzida por exercício.

3.10.4.3 Variabilidade da pressão arterial sistólica (VPAS) e da frequência cardíaca (VFC) nos domínios do tempo e da frequência

Os arquivos .txt com os valores de PAS e IP foram lidos no software CARDIOSERIES versão 2.4. Este software gera os parâmetros de VPAS e da VFC no domínio do tempo (Figura 3.9). Na segunda página do software CARDIOSERIES, são gerados os valores dos parâmetros de variabilidades cardiovasculares no domínio da frequência (Figura 3.10).

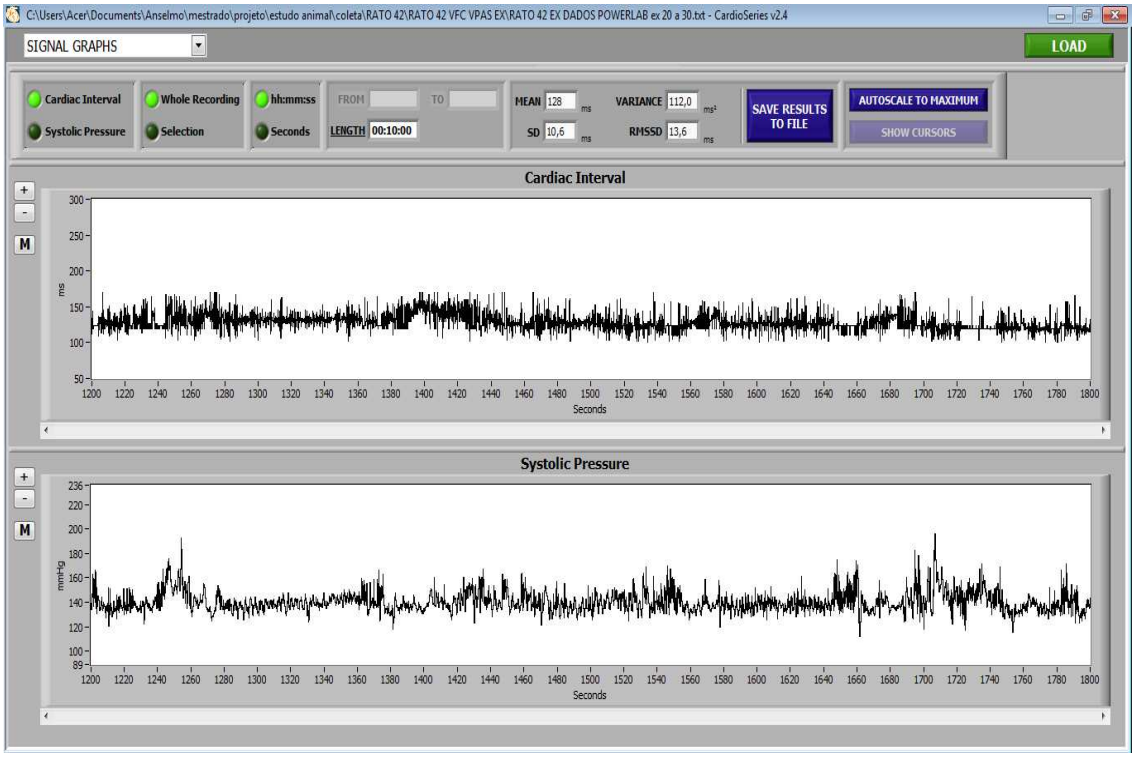


Figura 3.9. Programa CARDIOSERIES versão 2.4. A tela inicial do programa mostra os parâmetros da variabilidade no domínio do tempo. O painel superior mostra os valores do intervalo de pulso (ms) e o painel inferior mostra a pressão arterial sistólica (mmHg) em função do tempo (segundos). Os dados são referentes à análise de um rato durante a sessão de hipertermia induzida por exercício.

Foram realizadas análises no domínio do tempo e da frequência em condições de repouso usando um período de 10 minutos com sinal mais estável dentre os 60 minutos coletados e durante os últimos 10 minutos dos momentos hipertermia induzida por exercício e passiva. Os valores da PAS foram utilizados para a análise espectral em função da associação entre a VPAS e a função simpática vasomotora (Yoshimoto *et al.*, 2011).

A densidade espectral foi obtida por meio da transformada rápida de Fourier e o tamanho do segmento foi fixado em 512 pontos com 50% de sobreposição. Para análise da densidade espectral no domínio da frequência foram quantificadas as bandas de MBF (0,02 – 0,2 Hz), BF (0,2 – 0,8 Hz) e AF (0,8 – 3 Hz). Essas foram avaliadas usando as larguras de bandas previamente descritas (Fazan *et al.*, 2008; Stauss *et al.*, 2009).

Para análise da VPAS foram utilizadas a média, o desvio padrão e a variância, no domínio do tempo, e as bandas espectrais MBF, BF e AF, no domínio da frequência. Para análise da VFC foram utilizadas a média, o desvio padrão, a variância e o RMSSD, no domínio do tempo, e as bandas espectrais MBF, BF e AF, além da Razão BF/AF, no domínio da frequência.

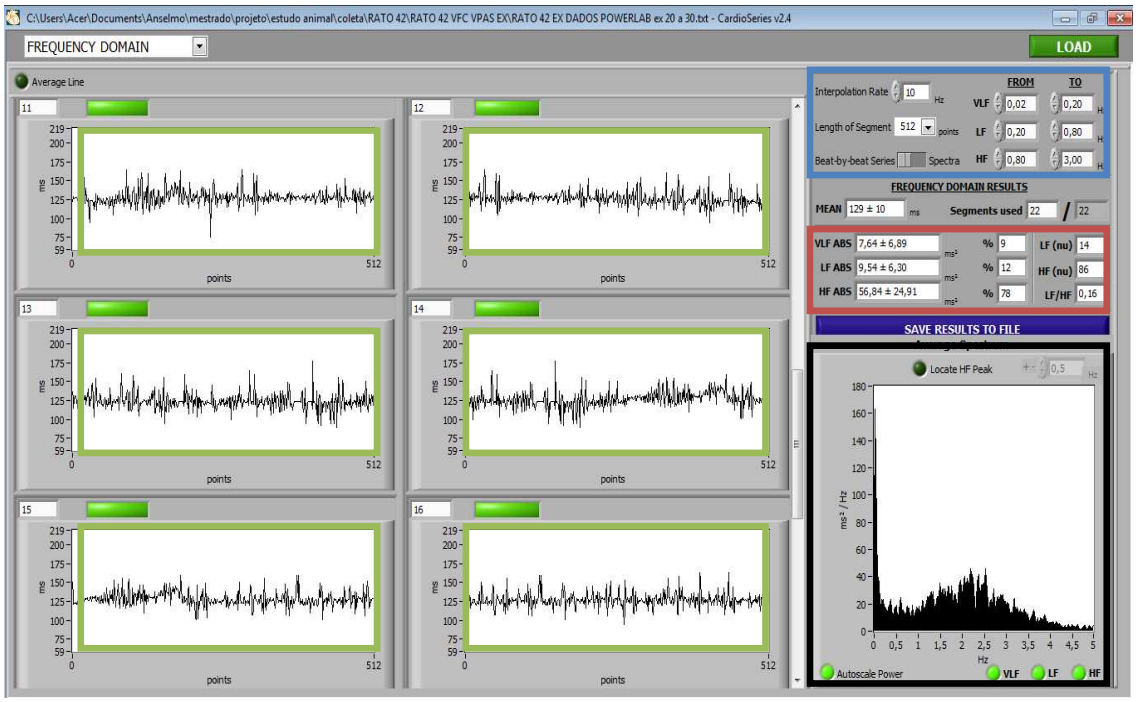


Figura 3.10. Segunda página do programa CARDIOSERIES versão 2.4. Nos painéis numerados de 11 a 16 (à esquerda), estão representados os parâmetros da variabilidade no domínio da frequência em segmentos de 512 pontos (em verde; o trecho analisado é dividido em subtrechos de 512 pontos). Na parte superior e à direita, estão representados a taxa de interpolação e o tamanho do segmento (em azul). Logo estão representadas as larguras das bandas de muito baixa, baixa e alta frequência (em vermelho). Na parte inferior e à direita, está representado um gráfico da densidade espectral calculada como a média da densidade dos seis segmentos analisados (em preto). Os dados são referentes à análise da variabilidade da frequência cardíaca de um rato durante a sessão de hipertermia induzida por exercício.

3.10.4.4 Sensibilidade barorreflexa espontânea

Para avaliar a sensibilidade barorreflexa espontânea, o ganho do reflexo foi determinado pelas alterações espontâneas na PAS e IP. Os intervalos avaliados foram os mesmos utilizados para a análise das variabilidades cardiovasculares (Figura 3.11).

Para essa análise o software Cardioseries v2.4 realiza uma inspeção batimento-a-batimento na série temporal selecionada, buscando por sequências de 4 batimentos consecutivos nos quais a PAS e o IP estejam aumentando, ou diminuindo, ao mesmo tempo. Isto irá caracterizar uma sequência barorreflexa. Uma vez caracterizadas, os valores de PAS e IP dessas sequências foram utilizados para cálculo da regressão linear de cada uma das sequências encontradas, com correlação linear superior a 0,80. A regressão linear pode ser calculada quando há aumento (UP) e redução nos valores das sequências (DOWN), ou ainda pela média de todas as sequências analisadas, resultando no valor do ganho reflexo.

O cálculo do ganho médio foi realizado com atrasos de três, quatro e cinco batimentos. Esse cálculo foi realizado em função do tempo de atraso para que as alterações na PAS sejam refletidas na resposta do IP (Oosting *et al.*, 1997). A sensibilidade barorreflexa foi representada pela quantificação dos valores da média do ganho dos três atrasos analisados para todas as sequências barorreflexas (Waki *et al.*, 2006).

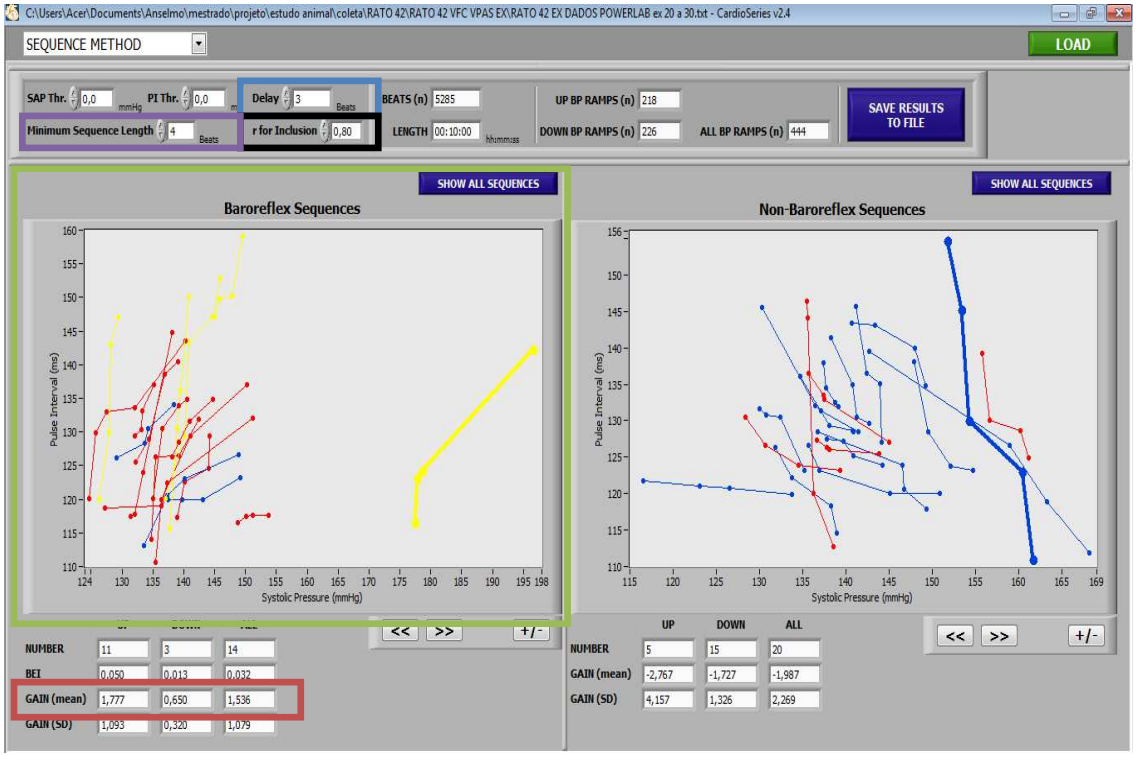


Figura 3.11. Terceira página do programa CARDIOSERIES versão 2.4. Na parte superior e à esquerda, estão representados o atraso utilizado para análise (em azul), a correlação linear superior a 0,80 (em preto) e sequências mínima de 4 batimentos consecutivos (em roxo). Nos painel ao centro e à esquerda estão representadas as sequências barorreflexas analisada (em verde) Na parte inferior e à esquerda está representado o valor médio do ganho (em vermelho). Os dados são referentes à análise de um rato durante a sessão de hipertermia induzida por exercício.

3.10.5 Velocidade máxima de corrida (Vmáx)

A Vmáx foi calculada a partir de uma adaptação da fórmula proposta por (Kuipers *et al.*, 1985) para o cálculo da potência máxima.

$$Vmáx = \mathrm{V1} + \left(\mathrm{V2\,x}\ \frac{\mathrm{t}}{180}\right)$$

Sendo:

V1: Velocidade da esteira atingida no último estágio completo ($m.min^{-1}$);

V2: Incremento na velocidade da esteira a cada estágio ($m.min^{-1}$);

t: Tempo gasto no estágio incompleto (seg.).

3.10.6 Taxa de elevação da temperatura intraperitoneal

A TETip foi calculada para estimar se a velocidade de aumento da temperatura intraperitoneal diferiu entre os grupos, e foi calculada utilizando a seguinte fórmula:

$$TETip = \frac{\Delta \text{Tip}}{\text{TT}}$$

Sendo:
TETip: Taxa de elevação da temperatura intraperitoneal (°C.min^{-1});
ΔTip: Variação da Tip entre o fim e o início da indução à hipertemia (ºC);
TT: Tempo total de indução à hipertermia (min).

3.10.7 Elevação da temperatura intraperitoneal

A elevação da T_{ip} foi calculada em função do aumento de temperatura intraperitoneal durante os períodos de indução à hipertermia, por meio da seguinte fórmula:

$$ETip = \text{Tfinal} - \text{Tinicial}$$

Sendo:
ET_{ip}: Elevação da T_{ip} (ºC ou min);
T_{final}: Temperatura intraperitoneal no minuto final da indução à hipertemia (ºC);
$T_{inicial}$: Temperatura intraperitoneal no minuto zero da indução à hipertemia (ºC);

3.10.8 Retirada de valores espúrios dos parâmetros cardiovasculares

Para retirada dos valores espúrios dos dados obtidos de PAS, PAD, PAM e FC pelo software LabChart 7, foi utilizado o software Microsoft Excel 2007. Neste

software as funções SE, OU, SENÃO e ENTÃO foram utilizadas. Ou seja, se a variável calculada fosse maior ou menor que 2 vezes o desvio padrão do trecho analisado, era assumido então o valor médio desse trecho. Senão, era assumido o valor original da variável. Para tal foi utilizada a seguinte fórmula:

$$VARIÁVEL = \text{SE}(\text{OU}(\text{VARIÁVEL} < (\text{DP x } 2); \text{VARIÁVEL} > (\text{DP x } 2); \text{MÉDIA}; \text{VARIÁVEL})$$

Sendo:
VARIÁVEL: PAS, PAD, PAM (mmHg) ou FC (bpm);
DP: Desvio padrão do trecho analisado (mmHg ou bpm);
MÉDIA: Média do trecho analisado (mmHg ou bpm).

3.10.9 Intervalo de pulso

O intervalo de pulso foi calculado a partir da frequência cardíaca obtida pelo software LabChart e filtrada após a retirada de valores espúrios, pela seguinte fórmula:

$$IP = \frac{60}{\text{FC}} \text{ x } 1000$$

Sendo:
IP: Intervalo de pulso (ms);
FC: Frequência cardíaca (bpm).

3.10.10 Duplo produto

Para mensuração do trabalho do miocárdio, foi realizado o cálculo do duplo produto, por meio da seguinte fórmula:

$$DPT = \text{PAS x FC}$$

Sendo:

DPT = Duplo produto (mmHg.bpm);

PAS = Pressão arterial sistólica (mmHg);

FC = Frequência cardíaca (bpm).

3.11 Apresentação dos resultados

Os valores absolutos de T_{ip}, a T_{cauda}, a PAM, PAS e PAD, a FC e o DPT foram analisados e apresentados a cada 2 minutos em função do tempo absoluto. Para buscar uma relação entre os parâmetros cardiovasculares, os valores das variabilidades cardiosvasculares e a sensibilidade barorreflexa analisados no presente estudo com a T_{ip}, os dados foram analisados e apresentados em função da variação da T_{ip} (ΔTip). No caso dos parâmetros cardiovasculares, utilizou-se uma variação a cada 0,2°C de aumento da T_{ip}. Já para os valores das variabilidades cardiovasculares e a sensibilidade barorreflexa, utilizou-se um intervalo de variação de 0,4°C de aumento da T_{ip} (0 a 0,4ºC; 0,4 a 0,8ºC; 0,8 a 1,2ºC; 1,2 a 1,6ºC; 1,6 a 2,0ºC;)

3.12 Análise estatística

Os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov. Os dados com distribuição normal foram apresentados como média ± erro padrão da média (EPM). Para as comparações entre as massas corporais dos animais nas situações experimentais; da T_{sala} durante o repouso e da $T_{esteira}$ e da T_{caixa} durante os períodos de indução à hipertermia; da TET_{ip} entre as sessões, da elevação da T_{ip} e do tempo para elevação da T_{ip}, foram utilizados testes *t* de Student.

Para as comparações da Tip, da Tcauda, da PAS, FC e DPT em função da ΔTip, dos parâmetros da VPAS no domínio do tempo em função do tempo e da ΔTip, e no domínio da frequência em função do tempo, dos parâmetros da VFC no domínio do tempo em função do tempo, e da sensibilidade barorreflexa em função do tempo e da

ΔTip, ao longo do tempo e entre as sessões experimentais foi utilizado análise de variância com dois fatores com medidas repetidas. Para as análises de múltiplas comparações *post hoc*, foi utilizado o teste de Tukey.

Os dados com distribuição não normal foram apresentados como mediana. Para as comparações entre os valores de PAM, PAS, PAD, FC e DPT em função do tempo, dos parâmetros da VPAS no domínio da frequência em função da ΔTip, dos parâmetros da VFC cardíaca no domínio da frequência em função da ΔTip, foi utilizado Teste de Friedman, seguido do teste de Student-Newman-Kells para as análises de múltiplas comparações *post hoc*. Para análise entre as situações experimentais dessas comparações foi utilizado o teste de Mann-Whitney. Para todas as análises foi adotado o nível de significância estatística $\alpha = 5\%$.

4. RESULTADOS

4.1. Variáveis de controle

A Tabela 4.1 apresenta os valores de T_{amb} ao longo das duas sessões experimentais. Durante a sessão na qual os ratos foram submetidos à hipertermia induzido por exercício físico, a T_{amb} permaneceu inalterada durante todo o experimento. Durante HP a T_{amb} permaneceu em valores próximos a 25ºC durante o repouso, foi aumentada para 35ºC para aquecer passivamente os animais ($p<0,05$).

Tabela 4.1 – Temperatura ambiente da sala durante o repouso, e da esteira e caixa aquecida durante o período de indução à hipertemia nas sessões experimentais.

	REPOUSO		HIPERTERMIA	
	INÍCIO	FINAL	INÍCIO	FINAL
HE	25,2 ± 0,2	25,1 ± 0,1	24,8 ± 0,3	25,2 ± 0,3
HP	25,0 ± 0,1	25,0 ± 0,1	35,2 ± 0,1*	35,1 ± 0,1*

T_{sala}: temperatura ambiente da sala durante o repouso (ºC); $T_{esteira}$: temperatura no interior da caixa acrílica que envolve a esteira durante na sessão HE; T_{caixa}: temperatura da caixa aquecida na sessão de HP; HE: Hipertemia induzida por exercício; HP: Hipertemia passiva. Os dados são apresentados como média ± EPM. *indica $p<0,05$ *vs.* REPOUSO INÍCIO HP.

Não houve diferença na massa corporal dos animais quando comparamos as duas sessões experimentais (HE: 315 ± 6 g vs. HP: 314 ± 6 g, $p<0,05$). Previamente aos experimentos, os ratos do grupo HE foram submetidos a um TPF para determinar a sua $V_{máx}$ dos ratos. A $V_{máx}$ do grupo HE foi de 28 ± 1 m/min, e a velocidade de corrida durante o protocolo de hipertermia induzida por exercício foi mantida em 22 ± 1 m/min.

4.2. Parâmetros termorregulatórios

4.2.1 Temperatura intraperitoneal

A Figura 4.1 mostra a T_{ip} em função do tempo ao longo das situações experimentais HE e HP. Durante a sessão HE, a T_{ip} elevou-se a partir do minuto 11 em comparação ao minuto 0 e manteve-se elevada até o final da sessão ($p<0,05$). Já durante a sessão HP, a T_{ip} elevou-se a partir do minuto 16 em comparação ao minuto 0 e manteve-se elevada até o final da sessão ($p<0,05$). Durante os períodos de repouso e de indução à hipertermia, não foram verificadas diferenças entre as situações experimentais.

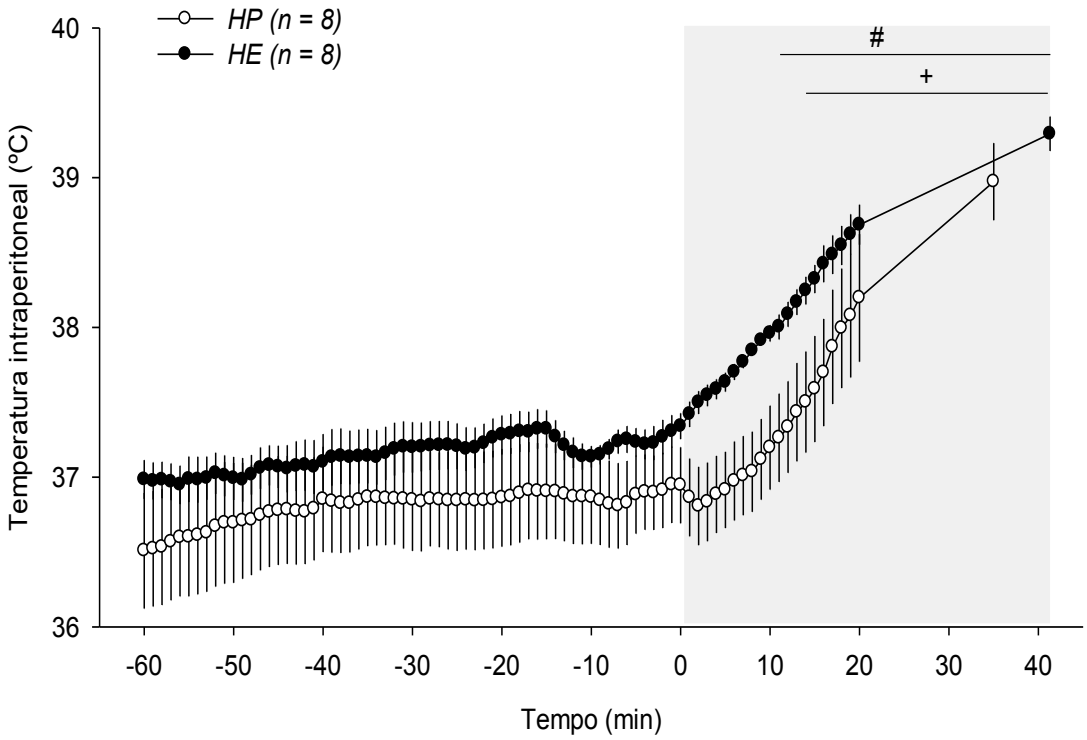


Figura 4.1. Temperatura intraperitoneal em função do tempo. Inicialmente os ratos permaneceram em repouso (-60 a 0 min), e na sequência foram submetidos à hipertermia induzida por exercício (HE) ou hipertermia passiva a 35ºC (HP). Os valores são apresentados como média ± EPM. * indica $p<0,05$ comparado à sessão HP. # indica $p<0,05$ comparado ao momento 0 HE. + indica $p<0,05$ comparado ao momento 0 HP.

4.2.1 Temperatura da pele da cauda

A Figura 4.2 mostra a T_{cauda} em função do tempo ao longo das situações experimentais HE e HP. Durante a sessão HE a T_{cauda} elevou-se a partir do minuto 13 em comparação ao minuto 0 e manteve-se elevada até o final da sessão ($p<0,05$). Já durante a sessão HP, a T_{cauda} elevou-se a partir do minuto 5 em comparação ao minuto 0 e manteve-se elevada até o final da sessão ($p<0,05$).

Durante o período de repouso não foram verificadas diferenças entre as situações experimentais. Contudo, no período de indução à hipertemia o grupo HP apresentou maiores valores de T_{cauda} comparado à sessão HE, do minuto 1 ao final da sessões experimentais ($p<0,05$).

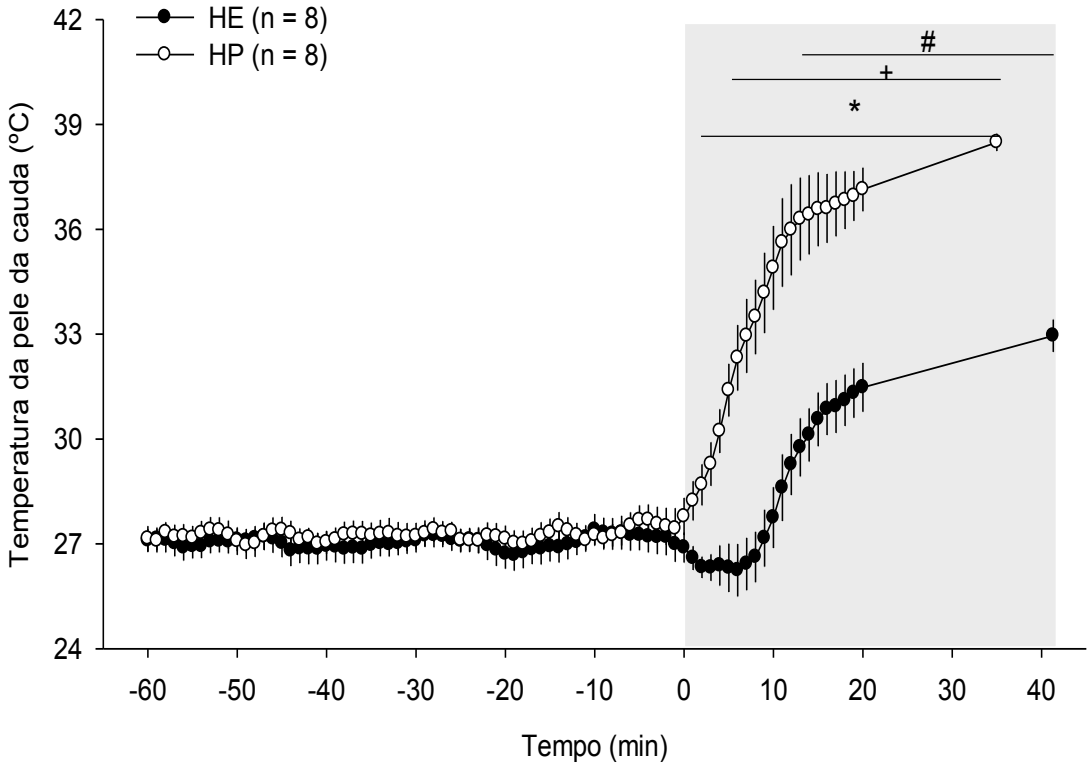


Figura 4.2. Temperatura da pele da cauda em função do tempo. (A) Inicialmente os ratos permaneceram em repouso (-60 a 0 min) e, na sequência foram submetidos à hipertermia induzida por exercício (HE) ou hipertermia passiva a 35ºC (HP). Os valores são apresentados como média ± EPM. * indica $p<0,05$ comparado à sessão HP. # indica $p<0,05$ comparado ao momento 0 HE. + indica $p<0,05$ comparado ao momento 0 HP.

4.2.2 Elevação da temperatura intraperitoneal

A Figura 4.3 mostra a elevação da T_{ip} durante os períodos de indução de hipertemia nas sessões experimentais. O Gráfico A da Figura 4.3 mostra que a TET_{ip} não apresentou diferenças entre a hipertermia induzida por exercício em comparação à hipertemia passiva (HE: 0,06 ± 0,01 ºC.min^{-1} *vs.* HP: 0,07 ± 0,01 ºC.min^{-1}; p>0,05).

O gráfico B da Figura 4.3 mostra a que ET_{ip} não apresentou diferenças entre as sessões HE e HP (1,96 ± 0,04 ºC.min^{-1} vs. 2,03 ± 0,16 ºC.min^{-1}, respectivamente; p>0,05).

Ao compararmos o tempo necessário para elevação da T_{ip} em 2ºC (gráfico C da Figura 4.3) não observamos diferenças entre as situações experimentais (tempo final: 41,3 min ± 11,0 vs. 35,0 ± 7,3 min, respectivamente; p>0,05).

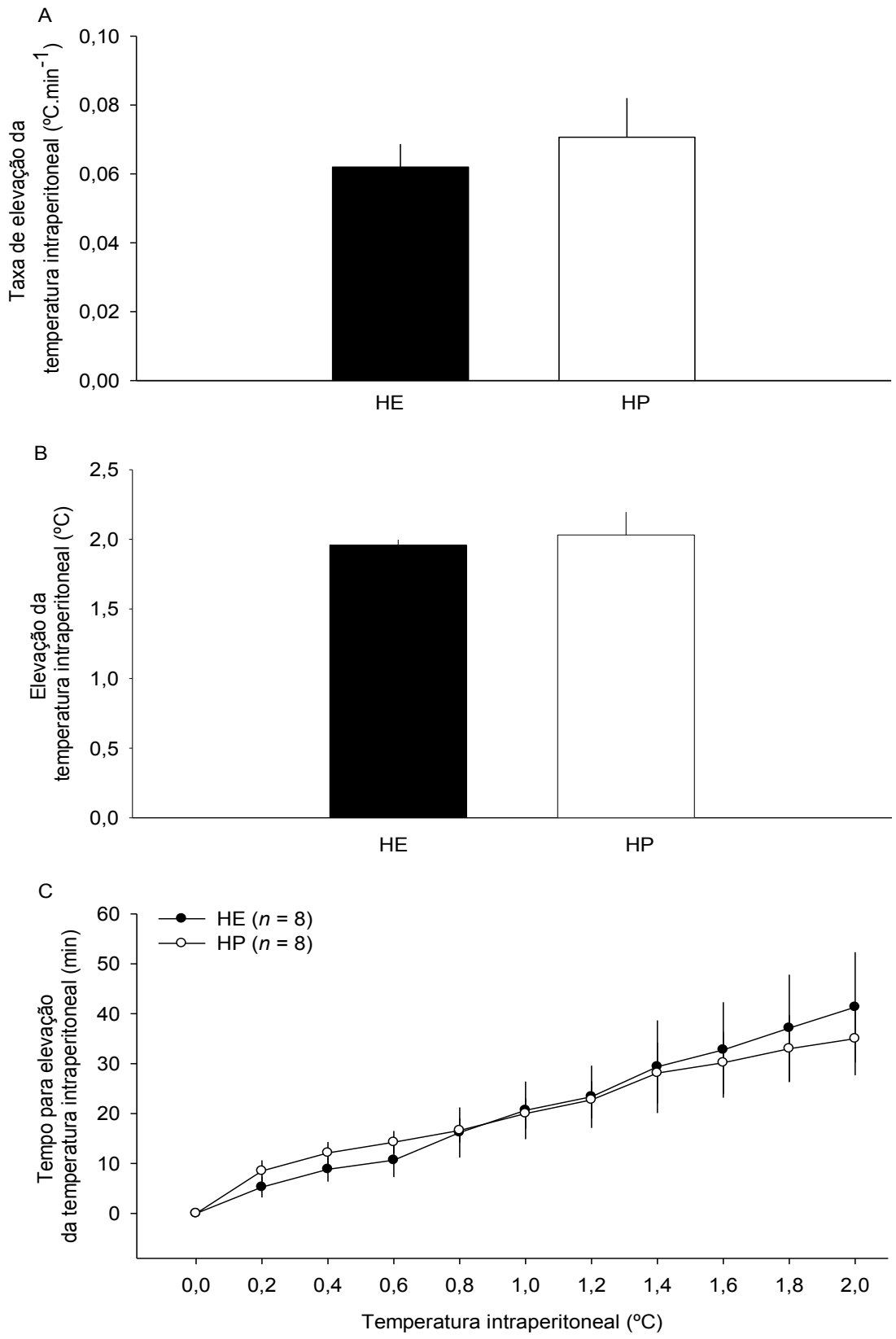


Figura 4.3. Taxa de elevação da temperatura intraperitoneal (A), Elevação da temperatura intraperitoneal (B) e Tempo para elevação da temperatura intraperitoneal (C) durante a indução à hipertermia nas sessões experimentais. HE: Hipertermia induzida por exercício; HP: Hipertermia passiva. Os valores são apresentados como média ± EPM.

4.3 Parâmetros cardiovasculares

4.3.1 Pressão arterial média, sistólica e diastólica

A Figura 4.4 mostra a PAM, PAS e PAD ao longo das situações experimentais HE e HP.

Durante a sessão HE, a PAM elevou-se entre os minutos 2 e 15 em comparação com o minuto 0 ($p<0,05$). Já durante a sessão HP, a PAM elevou-se nos minutos 2, 5, 6, 13, 20 e 35 em comparação com o minuto 0 ($p<0,05$).Durante o período de repouso e de indução à hipertermia, não foram verificadas diferenças entre as situações experimentais ($p>0,05$; Gráfico A da Figura 4.4).

Durante a sessão HE, a PAS elevou-se nos minutos 2, 12, 14 e 15 em comparação com o minuto 0 ($p<0,05$). Já durante a sessão HP, a PAS elevou-se nos minutos 2, 3, 4, 5, 6, 11, 12, 13, 15 19, 20 e 35 em comparação com o minuto 0 ($p<0,05$).Durante o período de repouso e de indução à hipertermia, não foram verificadas diferenças entre as situações experimentais ($p>0,05$; Gráfico B da Figura 4.4).

Durante a sessão HE, a PAD elevou-se nos minutos 2,4, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 13, 14 e 15 em comparação com o minuto 0 ($p<0,05$). Já durante a sessão HP, a PAD elevou-se nos minutos 2, 20 e 35 em comparação com o minuto 0 ($p<0,05$). Durante o período de repouso e de indução à hipertermia, não foram verificadas diferenças entre as situações experimentais ($p>0,05$; Gráfico C da Figura 4.4).

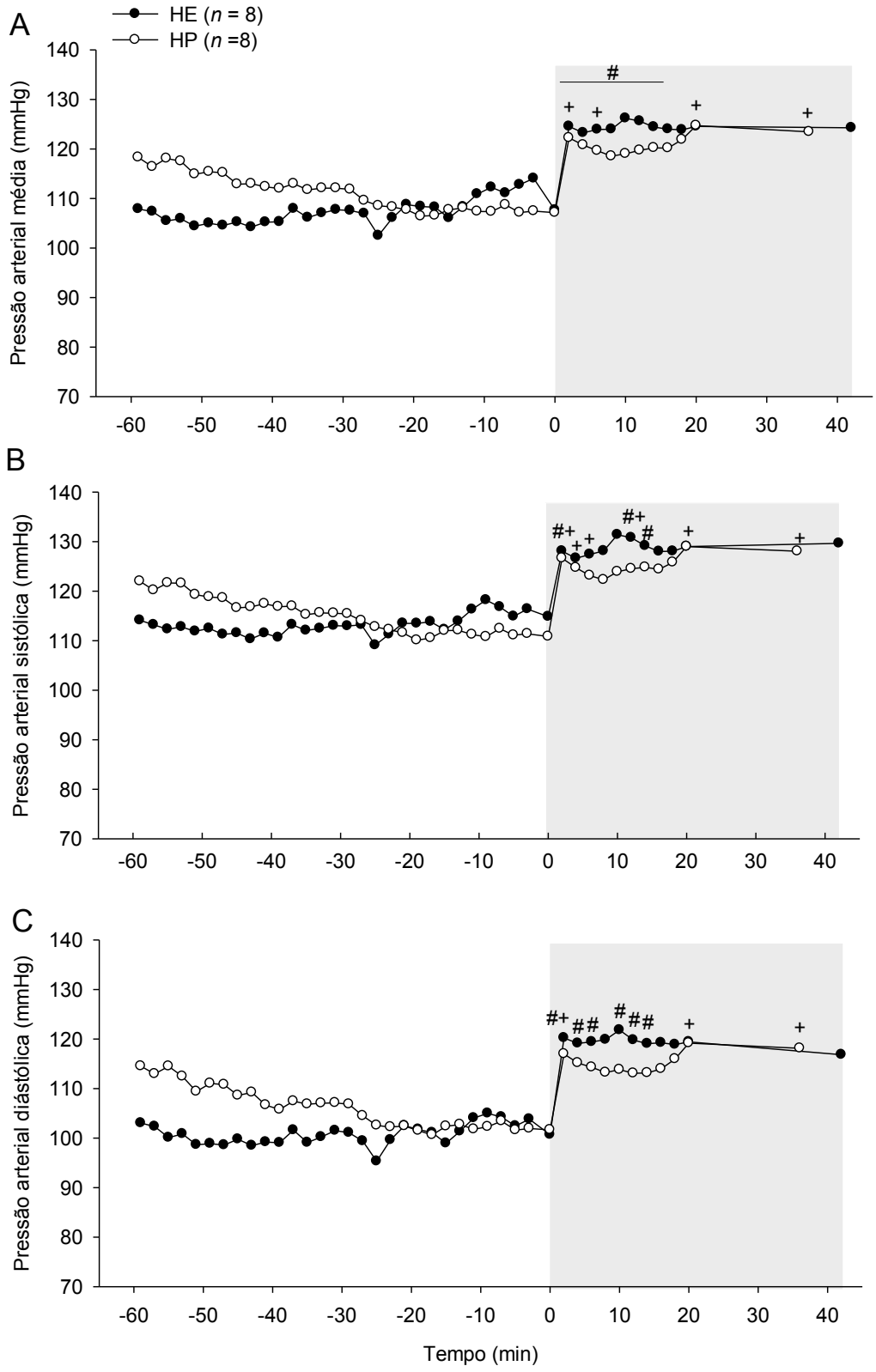


Figura 4.4. Pressão arterial em função do tempo. Inicialmente os ratos permaneceram em repouso (-60 a 0 min) e, na sequência foram submetidos à hipertermia induzida por exercício (HE) ou hipertermia passiva a 35ºC (HP). (A) Pressão arterial média, (B) Pressão arterial sistólica e (C) Pressão arterial diastólica. Os valores são apresentados como mediana. # indica $p < 0,05$ comparado ao momento 0 HE. + indica $p < 0,05$ comparado ao momento 0 HP.

4.3.2 Frequência cardíaca

A Figura 4.5 mostra a FC ao longo das situações experimentais HE e HP. Durante a sessão HE, a FC elevou-se a partir do minuto 1 e permaneceu elevada até o final da sessão em relação ao minuto 0 ($p<0,05$). Já durante a sessão HP, a FC elevou-se nos minutos 20 e 35 em comparação ao minuto 0 ($p<0,05$). Durante o período de repouso, não foram verificadas diferenças entre as situações experimentais ($p>0,05$), contudo no período de indução à hipertermia, a FC permaneceu elevada na sessão HE, em relação à sessão HP, do minuto 1 ao final da sessão experimental ($p<0,05$).

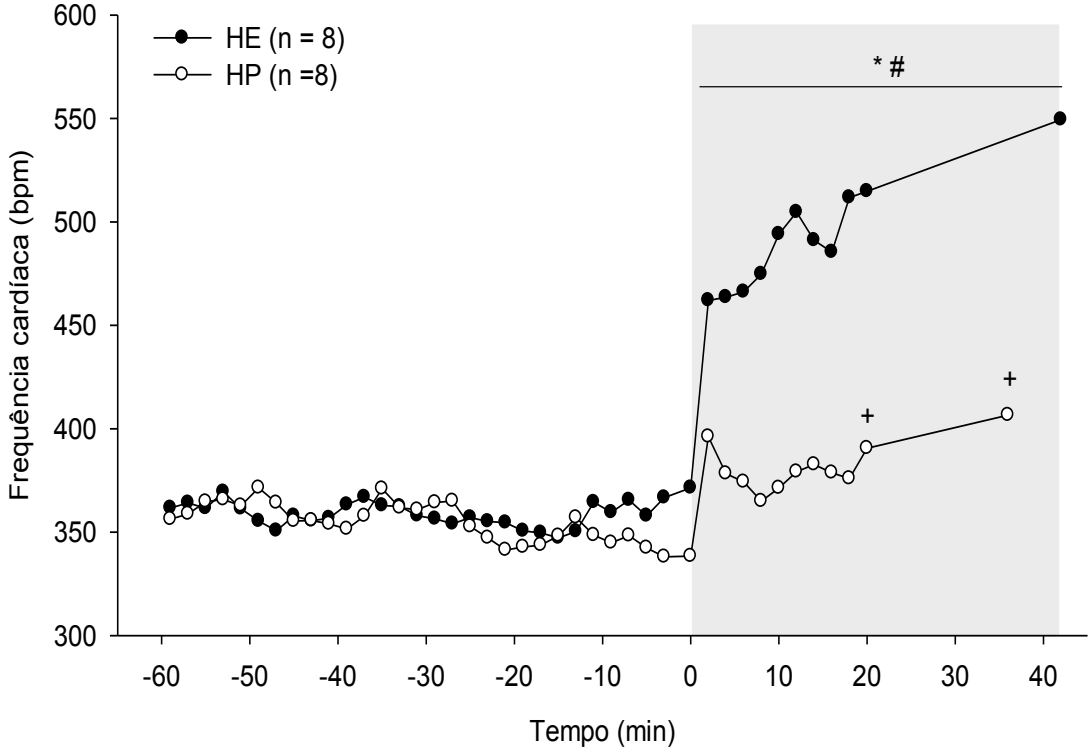


Figura 4.5. Frequência cardíaca em função do tempo. Inicialmente os ratos permaneceram em repouso (-60 a 0 min) e, na sequência foram submetidos à hipertermia induzida por exercício (HE) ou hipertermia passiva a 35ºC (HP). Os valores são apresentados como mediana. * indica $p<0,05$ comparado à sessão HP. # indica $p<0,05$ comparado ao momento 0 HE. + indica $p<0,05$ comparado ao momento 0 HP.

4.3.3 Duplo produto

A Figura 4.6 mostra o DPT ao longo das situações experimentais HE e HP. Durante a sessão HE, o DPT elevou-se a partir do minuto 1 até e permaneceu elevada até o final da sessão em relação ao minuto 0 ($p<0,05$). Já durante a sessão HP, o DPT elevou-se nos minutos 2, 3, 4, 5, 7, 12, 15, 16, 17, 20 e 35 em comparação ao minuto 0 ($p<0,05$). Durante o período de repouso não foram verificadas diferenças entre as situações experimentais ($p>0,05$), contudo no período de indução à hipertermia, o DPT permaneceu elevada na sessão HE, em relação à sessão HP, do minuto 3 ao final da sessão experimental ($p<0,05$).

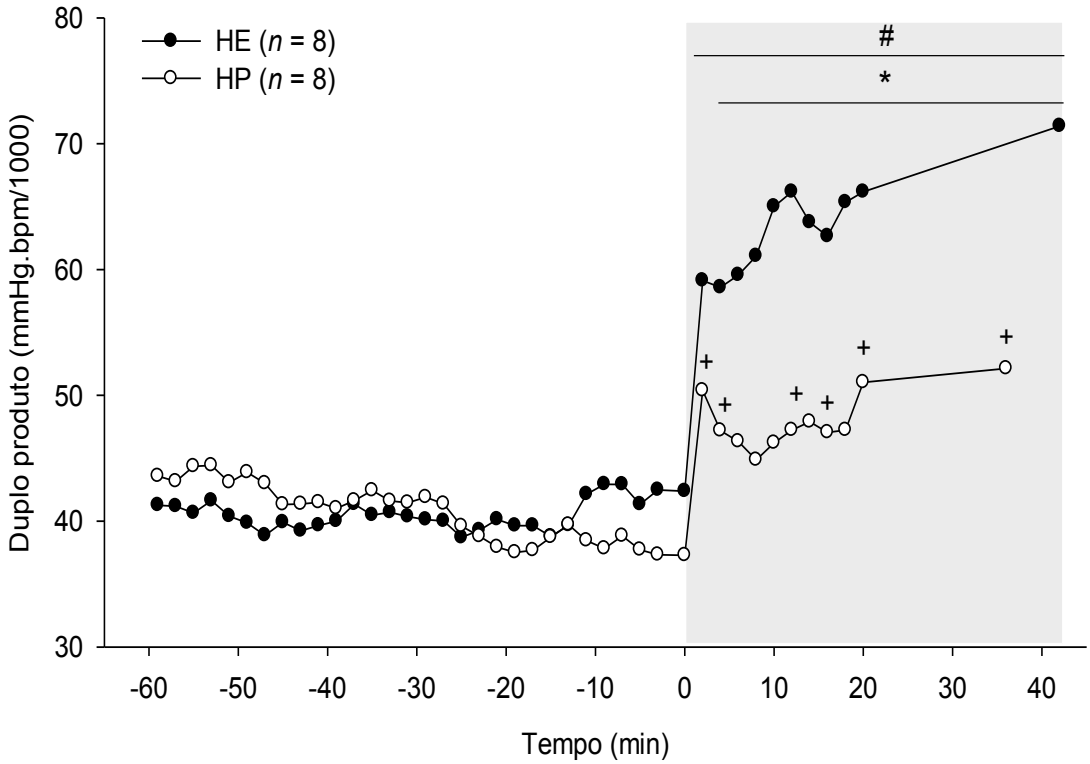


Figura 4.6 – Duplo produto em função do tempo. Inicialmente os ratos permaneceram em repouso (-60 a 0 min) e, na sequência foram submetidos à hipertemia induzida por exercício (HE) ou hipertemia passiva a 35ºC (HP). Os valores são apresentados como mediana. * indica $p<0,05$ comparado à sessão HP. # indica $p<0,05$ comparado ao momento 0 HE. + indica $p<0,05$ comparado ao momento 0 HP.

4.4 Análise das variabilidades cardiovasculares

4.4.1 Análise da variabilidade da pressão arterial sistólica no domínio do tempo

A tabela 4.2 mostra a análise da VPAS das situações experimentais HE e HP, no domínio do tempo. Durante a sessão HE, a média, o desvio-padrão e variância da VPAS elevaram-se no momento hipertermia em comparação ao repouso em ambas as sessões experimentais ($p<0,05$). Contudo ao comparamos os grupos experimentais, não foram encontradas diferenças em quaisquer dos parâmetros analisados ($p>0,05$).

Tabela 4.2. Parâmetros da variabilidade da pressão arterial sistólica, analisados no domínio do tempo, durante os momentos repouso (10 min) e hipertemia (10 min finais) durante as sessões HE e HP.

	Repouso		Hipertermia	
Parâmetro	HE	HP	HE	HP
Média (mmHg)	114 ± 6	111 ± 4	133 ± 5$^{\#}$	129 ± 6^{+}
D.P. (mmHg)	3,7 ± 0,4	3,3 ± 0,6	6,4 ± 0,7$^{\#}$	6,4 ± 0,7^{+}
Variância (mmHg^2)	15,5 ± 3,2	9,4 ±1,9	44,4 ± 8,7$^{\#}$	45,2 ± 10,2^{+}

Dados apresentados como média ± EPM. HE: Hipertermia induzida por exercício; HP: Hipertermia passiva. Média: média da pressão arterial sistólica; DP: desvio-padrão da pressão arterial sistólica; Variância: variância da pressão arterial sistólica. # indica $p<0,05$ comparado ao momento Repouso HE. + indica $p<0,05$ comparado ao momento Repouso HP.

4.4.2 Análise da variabilidade da pressão arterial sistólica no domínio da frequência

O gráfico 4.7 mostra a análise da VPAS no domínio da frequência, durante 10 minutos de sinal mais estável do repouso, e durante os 10 últimos minutos da indução à hipertermia, das situações experimentais HE e HP.

A banda de MBF (Gráfico A da figura 4.7) apresentou maiores valores no momento Hipertermia em comparação ao momento Repouso em ambas as sessões experimentais (HE: 11,10 ± 2,13 $mmHg^2$ *vs.* 3,34 ± 0,91 $mmHg^2$; $p<0,05$; HP: 7,80 ± 2,07 $mmHg^2$ *vs.* 1,72 ± 0,40 $mmHg^2$; $p<0,05$). As bandas de BF (Gráfico B da figura 4.7) e AF (Gráfico C da figura 4.7) apresentaram aumento no momento hipertermia comparado ao momento repouso durante a sessão experimental com exercício (BF HE: 9,84 ± 2,35 $mmHg^2$ *vs.* 2,19 ± 1,16 $mmHg^2$; $p<0,05$; AF HE: 12,76 ± 3,17 $mmHg^2$ *vs.* 0,53 ± 0,16 $mmHg^2$; $p<0,05$), mas não apresentaram diferenças entre o período de indução à hipertermia e período de repouso na sessão experimental HP (BF HP: 4,54 ± 1,64 $mmHg^2$ *vs.* 1,54 ± 0,51 $mmHg^2$; $p>0,05$; AF HP: 1,02 ± 0,28 $mmHg^2$ *vs.* 0,34 ± 0,09 $mmHg^2$; $p>0,05$).

Ao comparamos as sessões experimentais, pode-se observar que a sessão HE apresentou maiores valores de densidade espectral em todas as bandas de frequência (MBF: 11,10 ± 2,13 $mmHg^2$ *vs.* 7,8 ± 2,07 $mmHg^2$; $p<0,05$; BF: 9,84 ± 2,35 $mmHg^2$ *vs.* 4,54 ± 1,64 $mmHg^2$; $p<0,05$; AF: 12,76 ± 3,17 $mmHg^2$ *vs.* 1,02 ± 0,28 $mmHg^2$; $p<0,05$) durante o momento Hipertermia. Já no momento Repouso, não foram encontradas diferenças entre as sessões experimentais (MBF: 3,34 ± 0,91 $mmHg^2$ *vs.* 1,72 ± 0,40 $mmHg^2$; $p>0,05$; BF: 2,19 ± 1,16 $mmHg^2$ *vs.* 1,54 ± 0,51 $mmHg^2$; $p>0,05$; AF: 0,53 ± 0,16 $mmHg^2$ *vs.* 0,34 ± 0,09 $mmHg^2$; $p>0,05$).

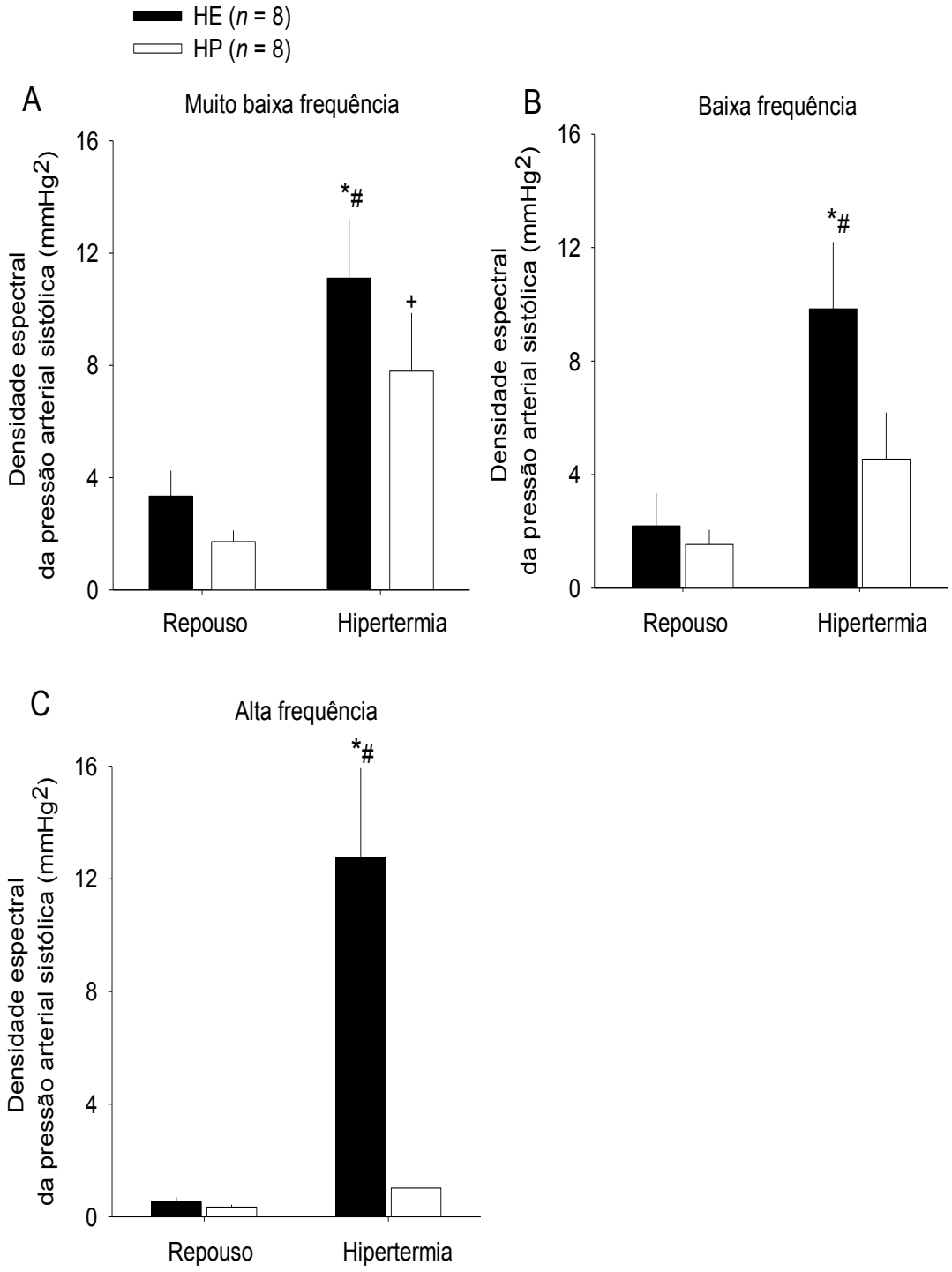


Figura 4.7. Densidade espectral da variabilidade da pressão arterial sistólica. Análise dos momentos repouso (10 min de sinal mais estável) e hipertermia (10 min finais). (A) Muito baixa frequência; (B) Baixa frequência; (C) Alta frequência. HE: Hipertermia induzida por exercício; HP: Hipertermia passiva. Os valores são apresentados como média ± EPM. * indica $p < 0,05$ comparado à sessão HP. # indica $p < 0,05$ comparado ao momento Repouso HE. + indica $p < 0,05$ comparado ao momento Repouso HP.

4.4.3 Análise da variabilidade da frequência cardíaca no domínio do tempo

A tabela 4.3 mostra a análise da VFC no domínio do tempo, das situações experimentais HE e HP.

A média do intervalo de pulso durante a sessão HE, apresentou diminuição no momento Hipertermia comparada ao momento Repouso ($p<0,05$). Ao compararmos as sessões experimentais, houve um menor intervalo de pulso durante a sessão HE em comparação à sessão de hipertermia passiva ($p<0,05$).

O desvio-padrão, a variância e o RMSSD da VFC não apresentaram diferenças, tanto quando comparamos o momento hipertermia ao momento repouso em ambas as sessões experimentais ($p>0,05$), e quando comparamos os parâmetros entre as sessões experimentais ($p>0,05$).

Tabela 4.3. Parâmetros da variabilidade da frequência cardíaca, analisados no domínio do tempo durante os momentos repouso (10 min de sinal mais estável) e hipertermia (10 min finais) durante as sessões HE e HP.

	Repouso		Hipertermia	
Parâmetros	HE	HP	HE	HP
Média (ms)	172 ± 6	179 ± 7	117 ± 5*#	159 ± 7
D.P. (ms)	8,9 ± 1,6	9,2 ± 1,3	9,1 ± 0,6	10,6 ± 1,2
Variância (ms^2)	96,6 ± 31,9	96,5 ± 21,8	86,1 ± 11,5	123,4 ± 21,6
RMSSD (ms)	9,7 ± 1,9	10,5 ± 1,6	12,2 ± 0,9	12,3 ± 1,5

Dados apresentados como média ± EPM. Média: média do intervalo de pulso; DP: desvio padrão do intervalo de pulso; Variância: variância do intervalo de pulso; RMSSD: raiz média quadrática das diferenças de intervalos de pulso. HE: Hipertermia induzida por exercício; HP: Hipertermia passiva.* indica $p<0,05$ comparado à sessão HP. # indica $p<0,05$ comparado ao momento Repouso HE.

4.4.4 Análise da variabilidade da frequência cardíaca no domínio da frequência

O gráfico 4.8 mostra a análise da VFC no domínio da frequência, durante 10 minutos de sinal mais estável do repouso, e durante os 10 últimos minutos da indução à hipertermia das situações experimentais HE e HP.

A banda de MBF (Gráfico A da figura 4.8) não apresentou diferenças entre os momentos Repouso e Hipertermia em ambas as situações experimentais (HE: 14,53 ± 5,37 ms^2 *vs.* 8,19 ± 2,12 ms^2; $p>0,05$; HP: 12,47 ± 4,29 ms^2 *vs.* 8,87 ± 1,97 ms^2; $p>0,05$), bem como não apresentou diferenças entre as sessões de exercício e hipertermia passiva (Repouso HE: 14,53 ± 5,37 ms^2 *vs.* HP: 12,47 ± 4,29 ms^2; $p>0,05$; Hipertermia HE: 8,19 ± 2,12 ms^2 *vs.* HP: 8,87 ± 1,97 ms^2; $p>0,05$).

As bandas BF (Gráfico B da figura 4.8) e AF (gráfico C da figura 4.8), e a Razão BF/AF (gráfico D da figura 4.8) apresentaram aumento no momento Hipertermia em comparação ao momento Repouso durante as sessões experimentais com exercício (BF HE: 9,84 ± 2,35 ms^2 *vs.* 2,19 ± 1,16 ms^2; $p<0,05$; AF HE: 12,76 ± 3,17 ms^2 *vs.* 0,53 ± 0,16 ms^2; $p<0,05$, Razão BF/AF HE: 0,32 ± 0,03 ms^2 *vs.*0,15 ± 0,03 ms^2; $p<0,05$), mas não apresentaram diferenças entre os momentos Hipertermia e Repouso na sessão experimental de hipertermia passiva (BF HP: 4,54 ± 1,64 ms^2 *vs.* 1,54 ± 0,51 ms^2; $p>0,05$; AF HP: 1,02 ± 0,28 ms^2 *vs.* 0,34 ± 0,09 ms^2; $p>0,05$; Razão BF/AF HE: 0,16 ± 0,02 ms^2 *vs.* 0,13 ± 0,02 ms^2; $p>0,05$).

Ao comparamos as sessões experimentais, pode-se observar que a sessão HE apresentou maiores valores de densidade espectral na banda de BF (20,84 ± 6,18 ms^2 *vs.* 6,96 ± 1,64 ms^2; $p<0,05$); e na Razão BF/AF (0,32 ± 0,08 ms^2 *vs.* 0,16 ± 0,02 ms^2; $p<0,05$) durante o momento Hipertermia em comparação com a sessão HP. A banda AF não apresentou diferenças entre as sessões no momento Hipertermia (62,59 ± 9,3 ms^2 *vs.* 40,02 ± 8,03 ms^2; $p>0,05$). Com relação ao momento Repouso, não foram encontradas diferenças entre as sessões experimentais (BF HE: 4,48 ± 1,54 ms^2 *vs.* HP: 4,68 ± 1,49 ms^2; $p>0,05$; AF HE: 29,49 ± 10,26 ms^2 *vs.* HP: 31,09 ± 8,55 ms^2; $p>0,05$; Razão BF/AF HE: 0,15 ± 0,03 ms^2 *vs.* 0,13 ± 0,02 ms^2; $p>0,05$).

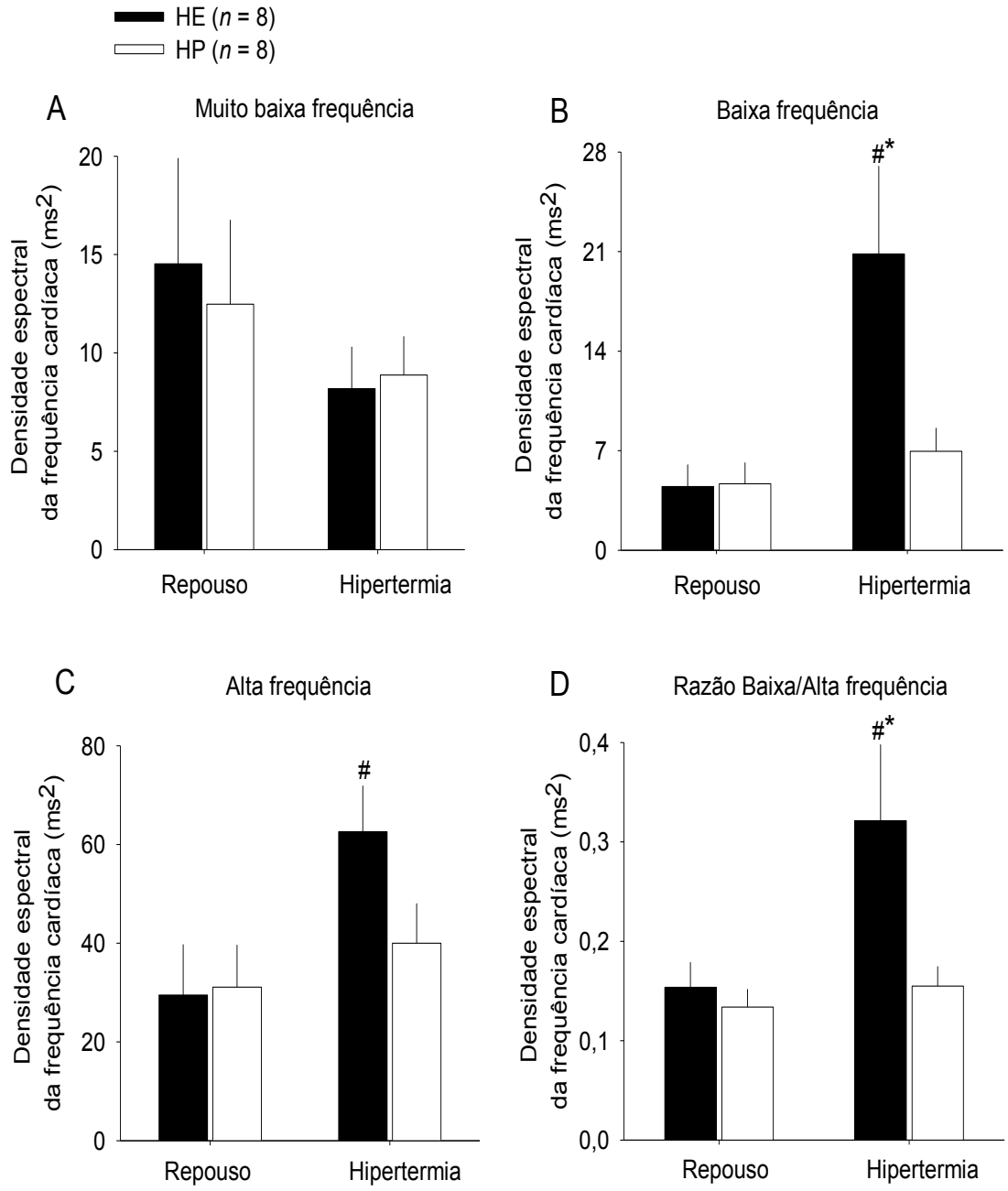


Figura 4.8. Densidade espectral da variabilidade da frequência cardíaca. Análise dos momentos repouso (10 min mais estáveis) e hipertermia (10 min finais). (A) Muito baixa frequência; (B) Baixa frequência; (C) Alta frequência; (D) Razão Baixa/Alta frequência. HE: Hipertermia induzida por exercício; HP: Hipertermia passiva. Os valores são apresentados como média ± EPM. * indica $p<0,05$ comparado à sessão HP. # indica $p<0,05$ comparado ao momento Repouso HE. + indica $p<0,05$ comparado ao momento Repouso HP.

4.4.5 Sensibilidade barorreflexa espontânea

A figura 4.9 mostra a análise da sensibilidade barorreflexa espontânea durante 10 minutos de sinal mais estável do repouso e durante os 10 últimos minutos da indução à hipertermia das situações experimentais HE e HP.

Não foram encontradas diferenças entre os momentos Hipertermia e Repouso em ambas as situações experimentais (HE: 2,87 ± 0,42 ms.mmHg^{-1} *vs.* 3,9 ± 0,50 ms.mmHg^{-1}; p>0,05; HP: 3,55 ± 0,62 ms.mmHg^{-1} *vs.* 4,07 ± 0,49 ms.mmHg^{-1}; p>0,05). Assim como, ao compararmos as situações experimentais, não foram observadas diferenças. (Repouso HE: 3,9 ± 0,50 ms.mmHg^{-1} *vs.* Repouso HP 4,07 ± 0,49 ms.mmHg^{-1}; p>0,05; Hipertermia HE: 2,87 ± 0,42 ms.mmHg^{-1} *vs.* Hipertermia HP 3,55 ± 0,62 ms.mmHg^{-1}; p>0,05).

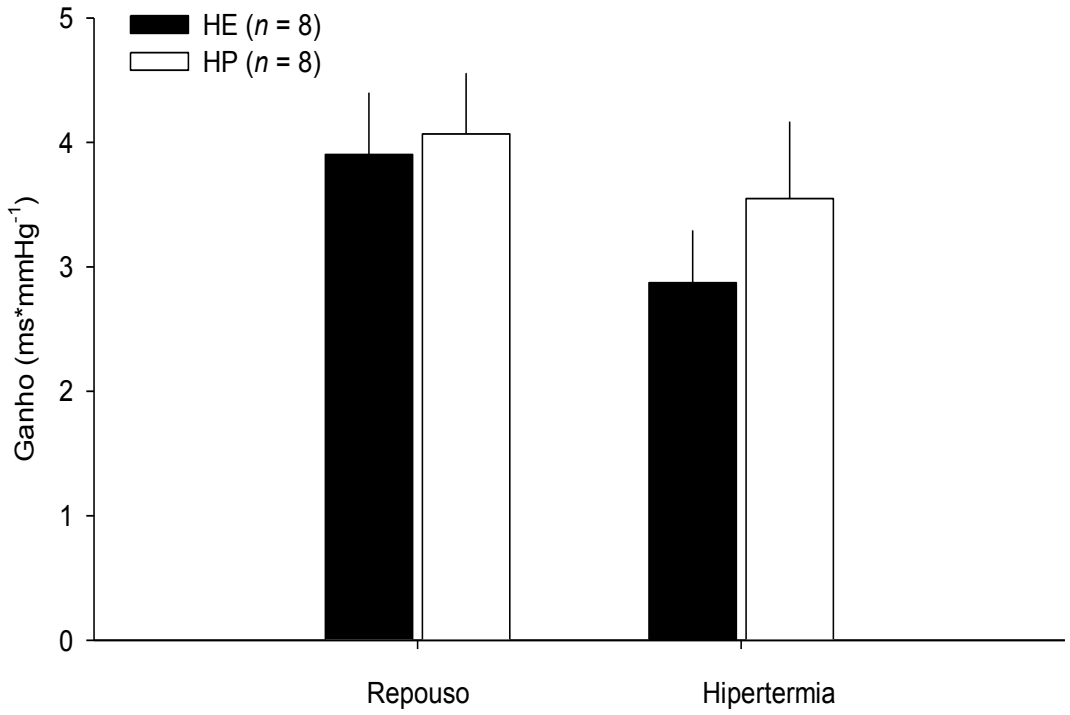


Figura 4.9. Sensibilidade barorreflexa espontânea (ganho). Análise dos momentos repouso (10 min. mais estáveis) e hipertermia. HE: Hipertermia induzida por exercício; HP: Hipertermia passiva. Os valores são apresentados como média ± EPM.

4.5 Parâmetros cardiovasculares em função da variação da temperatura intraperitoneal

O gráfico 4.10 mostra a análise da PAS, FC e DPT em função da ΔT_{ip}, durante o período de hipertermia nas sessões HE e HP.

A PAS (gráfico A da figura 4.13) apresentou aumento na sessão HE entre as ΔT_{ip} 0,2 e 2,0ºC, em comparação à variação 0 ($p<0,05$). O grupo HP não apresentou diferenças entre as ΔT_{ip} ($p>0,05$). E ao compararmos as sessões também não foram detectadas diferenças ($p>0,05$).

A FC (gráfico B da figura 4.13) apresentou aumento na sessão HE entre as ΔT_{ip} 0,2 e 2,0ºC, em comparação à variação 0 ($p<0,05$). O grupo HP apresentou aumento de FC nas ΔT_{ip} 0,8; 1,6 e 2,0ºC ($p<0,05$), em comparação à variação 0. A sessão HE apresentou maiores de valores de FC entre as ΔT_{ip} 0,2 e 2,0ºC, em comparação com a sessão HP ($p<0,05$).

O DPT (gráfico C da figura 4.13) apresentou aumento na sessão HE entre as ΔT_{ip} 0,2 e 2,0ºC, em comparação à variação 0 ($p<0,05$). O grupo HP apresentou aumento do DPT nas ΔT_{ip} 0,4; 0,6; 1,2; 1,6 e 2,0ºC ($p<0,05$), em comparação à variação 0. A sessão HE apresentou maiores de valores de DPT entre as ΔT_{ip} 0,2 e 2,0ºC, em comparação à sessão HP ($p<0,05$).

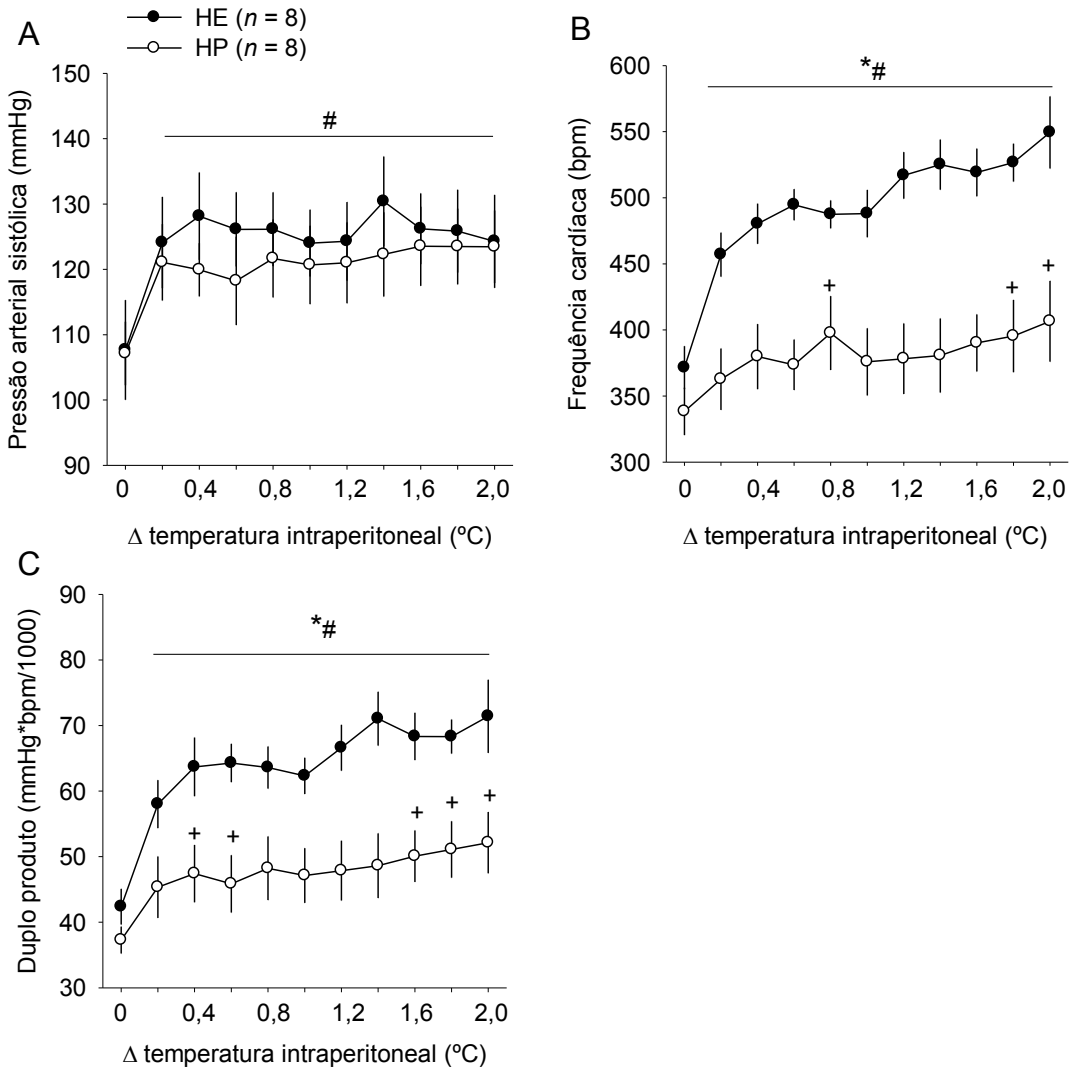


Figura 4.10. Parâmetros cardiovasculares em função das variações da temperatura intraperitoneal. (A) Pressão arterial sistólica; (B) Frequência cardíaca; (C) Duplo produto. HE: Hipertermia induzida por exercício; HP: Hipertermia passiva. Os valores são apresentados como média ± EPM. * indica $p<0,05$ comparado à sessão HP. # indica $p<0,05$ comparado ao momento Repouso HE. + indica $p<0,05$ comparado ao momento Repouso HP.

4.6 Análise das variabilidades cardiovasculares em função da variação da temperatura intraperitoneal.

4.6.1 Análise da variabilidade da pressão arterial sistólica no domínio do tempo em função da variação da temperatura intraperitoneal.

A tabela 4.4 mostra a análise da VPAS no domínio do tempo, durante 10 minutos de sinal mais estáveis do repouso e durante os intervalos de ΔT_{ip} correspondentes aos momentos 0 a 0,4; 0,4 a 0,8; 0,8 a 1,2; 1,2 a 1,6 e 1,6 a 2,0ºC durante o período de indução à hipertermia das situações experimentais HE e HP.

Durante a sessão HE, a média, o desvio-padrão e a variância da VPAS elevaram-se entre os momentos de ΔT_{ip} 0-0,4 a 1,6-2,0 em comparação com o momento Repouso ($p<0,05$). Durante a sessão HP, somente a média da VPAS elevou-se entre as ΔT_{ip} 0-0,4 a 1-6-2,0 em comparação com o momento Repouso. Os parâmetros desvio padrão e variância não apresentaram diferenças entre os momentos de ΔT_{ip} e o repouso ($p>0,05$).

Ao comparamos os sessões experimentais, a média não apresentou diferenças ($p>0,05$). Já o desvio-padrão foi maior na sessão HE nos momentos de ΔT_{ip} 0,4-0,8; 0,8-1,2 e 1-6-2,0 em comparação à sessão HP ($p<0,05$). Com relação à variância, a sessão HE foi maior na sessão HE nos momentos de ΔT_{ip} 0,4-0,8 e 0,8-1,2 comparado à sessão HP ($p<0,05$).

Tabela 4.4 – Parâmetros da variabilidade da pressão arterial sistólica, analisados no domínio do tempo, em função das variações da temperatura intraperitoneal durante as sessões HE e HP.

			Δ temperatura intraperitoneal (°C)									
	Repouso		0-0,4 °C		0,4-0,8 °C		0,8-1,2 °C		1,2-1,6 °C		1,6-2,0 °C	
Parâmetros	HE	HP	HE	HP	HE	HP	HE	HP	HE	HP	HE	HP
Média (mmHg)	118	114	136 #	125 +	137 #	120 +	136 #	135 +	136 #	135 +	136 #	134 +
D.P. (mmHg)	3,5	3,3	6,2 #	5,0	7,5 #*	4,2	7,3 #*	4,0	6,3 #*	5, 7	7,1 #*	5,0
Variância ($mmHg^2$)	12,3	10,7	38,2 #	25,1	53,7 #*	17,7	56,3 #*	17,5	39,8 #	31,8	49,7 #	25,4

Valores apresentados como mediana. Média: média da pressão arterial sistólica; DP: desvio-padrão da pressão arterial sistólica; Variância: variância da pressão arterial sistólica. HE: Hipertemia induzida por exercício; HP: Hipertemia passiva. * indica $p<0,05$ comparado à sessão HP. # indica $p<0,05$ comparado ao momento 0 HE. + indica $p<0,05$ comparado ao momento 0 HP.

4.6.2 Análise da variabilidade da pressão arterial sistólica, no domínio da frequência, em função da variação da temperatura intraperitoneal.

O gráfico 4.11 mostra a análise da VPAS no domínio da frequência, durante 10 minutos de sinal mais estáveis do repouso e durante os intervalos de ΔT_{ip} correspondentes aos momentos 0 a 0,4; 0,4 a 0,8; 0,8 a 1,2; 1,2 a 1,6 e 1,6 a 2,0ºC durante o período de indução à hipertermia das situações experimentais HE e HP.

Durante a sessão HE as bandas de MBF (gráfico A da figura 4.11) e BF (gráfico B da figura 4.11) apresentaram maiores valores de densidade espectral da VPAS entre os momentos de ΔT_{ip} 0-0,4 e 1-6-2,0 em comparação com o repouso ($p<0,05$). Já a AF (gráfico C da figura 4.11) apresentou maiores valores de densidade espectral da VPAS entre os momentos de ΔT_{ip} 0,4-0,8 e 1,6-2,0 em comparação com o repouso ($p<0,05$).

Durante a sessão HP as bandas de MBF (gráfico A da figura 4.11), BF (gráfico B da figura 4.11) e AF (gráfico C da figura 4.11) não apresentaram diferenças entre os valores de densidade espectral da VPAS nas ΔT_{ip} em comparação com o repouso ($p>0,05$).

Ao comparamos as sessões experimentais, pode-se observar que a sessão HE apresentou maiores valores de densidade espectral em todas as bandas de frequência analisadas. Essas diferenças foram demonstradas na banda de MBF nas ΔT_{ip} 0,4-0,8 ($p<0,05$); na banda de BF entre as ΔT_{ip} 0,4-0,8 e 1,6-2,0 ($p<0,05$); e na banda de AF, entre as ΔT_{ip} 0,8-1,2 e 1,6-2,0 ($p<0,05$).

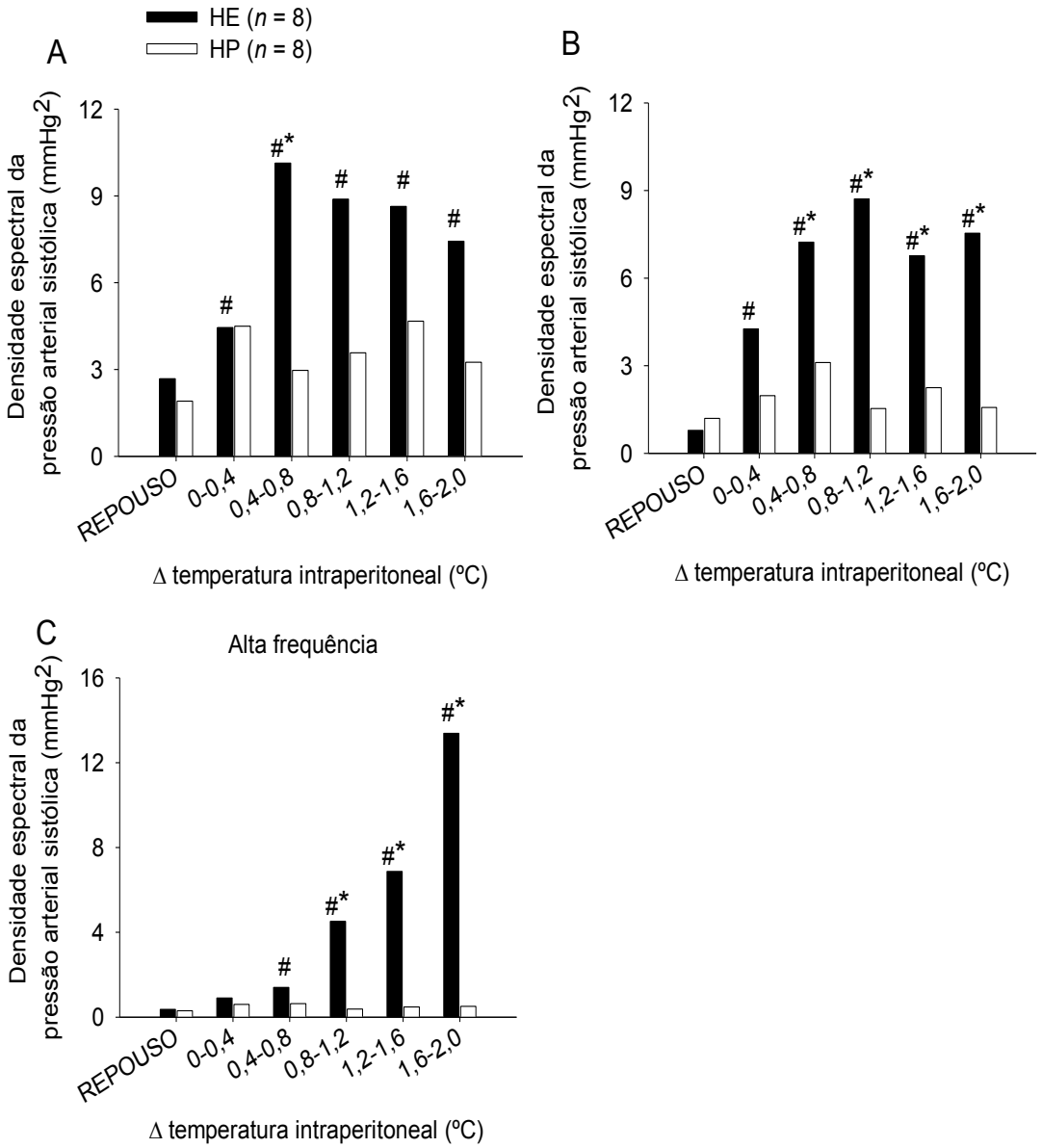


Figura 4.11. Densidade espectral da variabilidade da pressão arterial sistólica em função da variação da temperatura intraperitoneal. (A) Muito baixa frequência; (B) Baixa frequência; (C) Alta frequência. HE: Hipertermia induzida por exercício; HP: Hipertermia passiva. Os valores são apresentados como mediana. * indica $p<0,05$ comparado à sessão HP. # indica $p<0,05$ comparado ao momento Repouso HE. + indica $p<0,05$ comparado ao momento Repouso HP.

4.6.3 Análise da variabilidade da frequência cardíaca, no domínio do tempo, em função da variação da temperatura intraperitoneal.

A tabela 4.5 mostra a análise da VFC no domínio do tempo, durante 10 minutos de sinal mais estáveis do repouso e durante os intervalos de ΔT_{ip} correspondentes aos momentos 0 a 0,4; 0,4 a 0,8; 0,8 a 1,2; 1,2 a 1,6 e 1,6 a 2,0ºC durante o período de indução à hipertemia das situações experimentais HE e HP.

Durante a sessão HE, a média do IP apresentou diminuição entre os momentos de ΔT_{ip} 0-0,4 e 1-6-2,0 em comparação com o repouso ($p<0,05$). Além disso a sessão HE apresentou média de IP menor em comparação à sessão HP, entre os momentos de ΔT_{ip} 0-0,4 e 1,6-2,0 ($p<0,05$). Com relação à sessão HP, a média do IP apresentou diminuição no momento de ΔT_{ip} 1,6-2,0 em comparação com o repouso ($p<0,05$).

O desvio-padrão, a variância e o RMSSD da VFC não apresentaram diferenças, tanto quando comparamos as ΔT_{ip} e o momento repouso em ambas as sessões experimentais ($p>0,05$), quanto comparamos esses parâmetros entre as sessões experimentais ($p>0,05$).

Tabela 4.5. Parâmetros da variabilidade da frequência cardíaca, analisados no domínio do tempo, em função das variações da temperatura intraperitoneal durante as sessões HE e HP.

			Δ temperatura intraperitoneal (ºC)									
	Repouso		0-0,4 ºC		0,4-0,8 ºC		0,8-1,2 ºC		1,2-1,6 ºC		1,6-2,0 ºC	
Parâmetros	HE	HP	HE	HP	HE	HP	HE	HP	HE	HP	HE	HP
Média (ms)	172±6	179±7	128±3*#	167±11	124±4*#	170±10	120±4*#	162±10	118±5*#	166±9	115±5*#	157±10+
D.P. (ms)	8,9±1,6	9,2±1,3	8,8±1,3	10,5±1,4	9,1±0,8	9,4±1,5	8,0±0,5	10,0±1,6	8,6±0,8	10,0±1,9	8,7±0,6	9,0±1,3
Variância (ms^2)	96,6±31,9	96,5±21,8	88,7±23,1	123,8±27	88,6±15,5	105,1±25	66,3±8,2	123,7±28	79,3±14,0	123±37,3	78,5±10,7	92,7±22,9
RMSSD (ms)	9,7±1,9	10,5±1,6	12,3±1,7	11,3±1,3	11,5±0,7	11,5±1,8	12,3±0,8	13,3±1,8	12,0±1,0	12,6±1,8	11,9±0,8	12,4±1,7

Dados apresentados como média ± EPM. Média: média do intervalo de pulso; DP: desvio padrão do intervalo de pulso Variância: variância. HE: Hipertemia induzida por exercício. HP: Hipertermia passiva. * indica $p<0,05$ comparado à sessão HP. # indica $p<0,05$ comparado ao momento Repouso HE. + indica $p<0,05$ comparado ao momento Repouso HP.

4.6.4 Análise da variabilidade da frequência cardíaca, no domínio da frequência, em função da variação da temperatura intraperitoneal.

O gráfico 4.12 mostra a análise da VFC no domínio da frequência, durante 10 minutos de sinal mais estáveis do repouso e durante os intervalos de ΔT_{ip} correspondentes aos momentos 0 a 0,4; 0,4 a 0,8; 0,8 a 1,2; 1,2 a 1,6 e 1,6 a 2,0ºC durante o período de indução à hipertermia das situações experimentais HE e HP.

As bandas MBF (Gráfico A da figura 4.12) e AF (Gráfico C da figura 4.12), não apresentaram diferenças entre as ΔT_{ip} e o momento repouso, em ambas as situações experimentais ($p>0,05$), bem como não apresentaram diferenças entre as sessões de exercício e hipertermia passiva ($p>0,05$).

A banda BF (Gráfico B da figura 4.12), apresentou aumento no momento de ΔT_{ip} 1,6-2,0 em comparação com o repouso durante a sessão experimental com exercício ($p<0,05$), e não apresentou diferenças entre as sessões experimentais ($p>0,05$).

A banda AF (Gráfico B da figura 4.12), apresentou aumento nos momentos de ΔT_{ip} 0,8-1,2 e 1,6-2,0 na sessão HE em comparação à sessão HP ($p<0,05$), e não apresentou diferenças entre os momentos de ΔT_{ip} e o momento repouso em ambas situações experimentais ($p>0,05$).

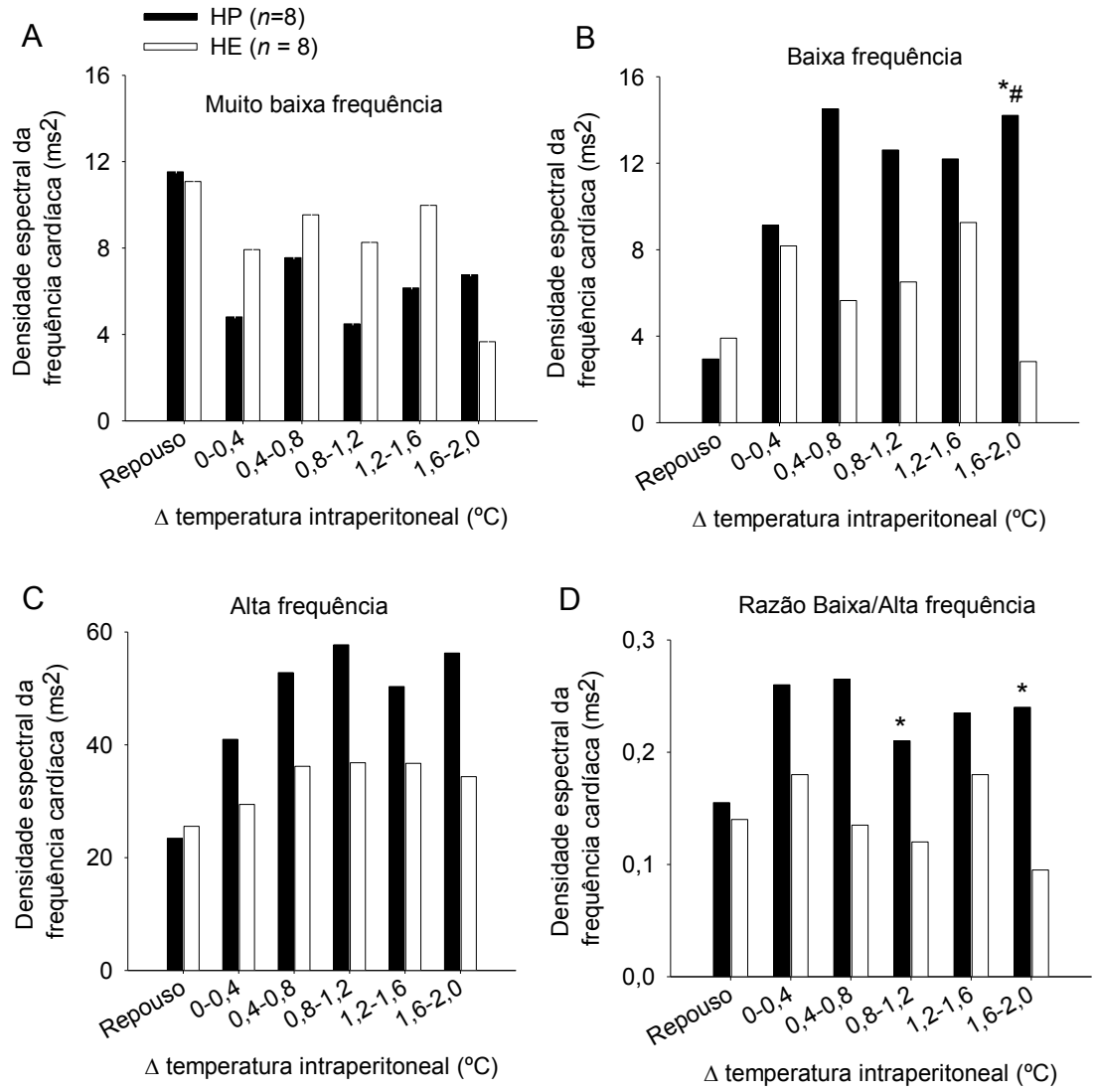


Figura 4.12. Densidade espectral da variabilidade da frequência cardíaca em função das variações da temperatura intraperitoneal. (A) Muito baixa frequência; (B) Baixa frequência; (C) Alta frequência; (D) Razão Baixa/Alta frequência. HE: Hipertermia induzida por exercício; HP: Hipertermia passiva. Os dados são apresentados como mediana. * indica $p<0,05$ comparado à sessão HP. # indica $p<0,05$ comparado ao momento Repouso HE.

4.7 Sensibilidade barorreflexa espontânea em função da variação da temperatura intraperitoneal.

O gráfico 4.13 mostra a análise da sensibilidade barorreflexa espontânea durante 10 minutos de sinal mais estáveis do repouso e durante os intervalos de ΔT_{ip} correspondentes aos momentos 0 a 0,4; 0,4 a 0,8; 0,8 a 1,2; 1,2 a 1,6 e 1,6 a 2,0ºC durante o período de indução à hipertermia das situações experimentais HE e HP.

Não foram encontradas diferenças no ganho entre as ΔT_{ip} e o momento repouso em ambas situações experimentais ($p>0,05$), bem como não houve diferenças entre as sessões de exercício e hipertermia passiva ($p>0,05$).

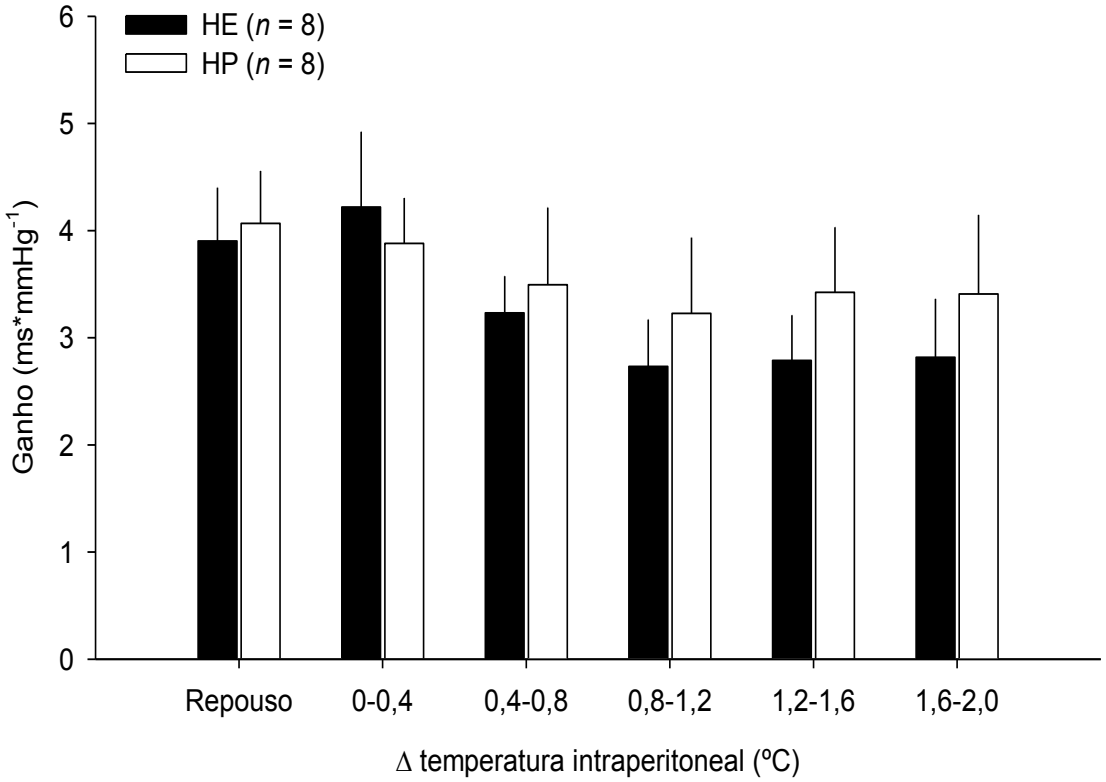


Figura 4.13. Sensibilidade barorreflexa espontânea (ganho) em função da variação da temperatura intraperitoneal. HE: Hipertermia induzida por exercício; HP: Hipertermia passiva. Os valores são apresentados como média ± EPM.

5. DISCUSSÃO

O presente estudo testou a hipótese de que a hipertermia induzida por exercício físico e por exposição ao ambiente quente seriam capazes de alterar a modulação autonômica cardíaca em ratos de forma equivalente. Os resultados demonstraram que a hipertermia induzida por exercício físico e por exposição ao ambiente quente induziram aumentos na T_{ip}, na T_{cauda}, na PAM, PAS e PAD, na FC e no DPT. Além disso, ambos os protocolos alteraram a modulação autonômica, por meio de aumentos dos parâmetros de VPAS e não foram capazes de reduzir a VFC, no domínio do tempo. Contudo, a hipertemia induzida por exercício exacerbou os aumentos da FC e do DPT, em comparação à hipertermia passiva. Além disso, ocorreram aumentos da BF e AF das variabilidades cardiovasculares e da Razão BF/AF da VFC durante o exercício, o que não ocorreu durante a exposição ao ambiente quente. A partir desses resultados a hipótese do presente estudo foi negada.

Tais resultados sugerem o aumento da atividade simpática e a diminuição da parassimpática na hipertermia induzida pelo exercício, o que não ocorreu na hipertermia passiva. Além disso, a banda MBF da VFC, que reflete a influência da termorregulação e do SRA sobre a FC batimento a batimento, não apresentou diferenças em nenhuma das sessões experimentais, assim como a sensibilidade barorreflexa. Com base nesses achados, a hipótese do presente do estudo foi negada, uma vez que a hipertemia induzida por exercício físico provocou alterações de maior magnitude sobre a modulação autonômica cardíaca em ratos em comparação à hipertemia passiva por exposição ao ambiente quente.

O aumento da T_{ip} foi idêntica em ambas as sessões experimentais (Figura 4.1). Contudo, é interessante destacar que a termorregulação difere quando comparamos o exercício físico com o repouso ou com a exposição ao calor. O aumento da T_{ip} durante o exercício é decorrente da produção de calor gerada pela contração muscular, enquanto durante a exposição ao calor, a hipertermia ocorreu em função da T_{caixa} elevada. Quando a T_{amb} é maior que a T_{pele}, como ocorrido nos dez primeiros minutos do protocolo de hipertermia passiva, o corpo ganha calor a partir do ambiente, por meio das vias secas de troca de calor. E mesmo após a T_{cauda} dos ratos ter atingido valores superiores à T_{caixa} (> 35ºC; após 15 minutos de exposição ao calor, Figura 4.2), a dissipação do calor é pequena, pois o gradiente de temperatura entre a pele e o ambiente é pequeno. Em

síntese, mecanismos distintos induzem o aumento da T_{ip} nos dois protocolos adotados no presente estudo.

Nas duas sessões experimentais somente a fase dinâmica de elevação de T_{ip} foi observada. Nessa fase, os animais apresentam uma elevação rápida da T_{ip}, decorrente do desequilíbrio entre os mecanismos de dissipação e produção de calor (Webb, 1995). Ao longo das sessões experimentais esse desequilíbrio foi mantido e os animais não conseguiram manter a T_{ip} estável. Esse desequilíbrio se deveu à demanda metabólica elevada (necessária para realização do exercício) e à carga elevada de calor no ambiente quente, e foi refletido na resposta da T_{cauda}, considerada um índice importante da dissipação de calor. Uma revisão recente (Romanovsky, 2014) destacou que o principal papel termorregulatório dos sinais térmicos cutâneos é proporcionar retroalimentação negativa e positiva para o controle termorregulatório, reduzindo assim, o tempo de resposta do sistema e fazendo a temperatura do corpo permanecer mais estável. Logo, a elevação constante da T_{cauda} apresentada nas duas situações experimentais demonstra a tentativa do organismo dos animais em manter estabilidade da T_{ip}, embora esse equilíbrio não tenha sido atingido.

Durante a sessão de hipertermia passiva, a T_{cauda} apresentou maiores valores em comparação ao exercício. Gordon (1993) destacou que T_{pele} sofre grande influência da T_{amb} para manter a homeostasia da T_{int}. É importante enfatizar que as alterações da T_{cauda} refletem oscilações do tônus vasomotor cutâneo (Szekely, 1986). No protocolo de hipertermia passiva, os ratos repousaram durante 60 minutos em ambiente temperado (25ºC) e na sequência foram deslocados para uma caixa aquecida a 35ºC. Essa alteração de temperatura estimula os termorreceptores cutâneos e isso induz vasodilatação cutânea. Já o aumento da T_{cauda} durante o exercício em ambiente temperado (Figura 4.2), é mediado predominantemente pelo aumento da T_{int}. Juntos, esses dados mostram que a necessidade de dissipar calor pela exposição ao calor produz maior aumento da T_{cauda} quando comparado ao aumento induzido pelo exercício.

A diferença nas de vias dissipação de calor durante a exposição passiva ao ambiente quente e durante o exercício é outro fator importante que influencia tanto a medida da T_{cauda} quanto da T_{int}. Na hipertermia passiva o rato dissipa calor por via autonômica e por meio da dispersão de saliva sobre os pêlos, o que leva ao aumento da perda de água por evaporação (Barney e West, 1990). Entretanto durante o exercício físico o rato não é capaz de espalhar a saliva sobre o corpo e manter a velocidade da esteira. Por outro lado, durante o exercício a frequência respiratória é maior quando

comparada à exposição ao calor (Lewis *et al.*, 1960), aumentando a dissipação de calor por essa via.

Apesar das diferenças fisiológicas para elevação da T_{ip} e da T_{cauda}, podemos observar que a TET_{ip}, bem como o tempo para elevação da T_{ip} em 2ºC, não apresentaram diferenças entre as sessões experimentais (Figura 4.3). Esses resultados demonstram que os protocolos foram eficientes em elevar a T_{ip} de maneira que possamos diferenciar os parâmetros e as variabilidades cardiovasculares analisados no presente estudo a partir do aumento de T_{ip}.

No presente estudo ambos os protocolos experimentais foram capazes de aumentar a PAM, a PAS, a PAD, bem como a FC e o DPT ao longo do tempo (Figuras 4.4, 4.5 e 4.6). É interessante notar que tanto o exercício quanto a exposição ao calor induziram aumentos semelhantes na PAM. Durante o exercício, essa aumenta em função do aumento da necessidade de perfusão nos músculos em contração. Além disso, ao longo do exercício é necessário dissipar o calor produzido, portanto, o ponto de operação do reflexo pressórico é modulado para permitir a manutenção dos fluxos sanguíneos e cutâneo, por meio de redistribuição de fluxo sanguíneo renal e visceral para a pele. Em contraste, durante a exposição ao calor, é provável que o aumento da PAM nessa condição seja decorrente na necessidade em manter um grande fluxo sanguíneo da pele, na tentativa de evitar ou minimizar a hipertermia.

Outro resultado importante é que o aumento da PAM, nas duas situações experimentais avaliadas, ocorreu em função de aumentos na PAS e na PAD. É esperado, que em humanos e em ratos, o exercício físico resulte em aumento da PAS. Já a PAD dos ratos aumentou em relação ao repouso, mesmo com o aumento do fluxo sanguíneo na cauda (inferido a partir da medida da T_{cauda}) durante as duas situações experimentais. Esses dados sugerem que a dilatação das artérias cutâneas da cauda não é capaz de diminuir a resistência periférica total em ratos.

A resposta da PAD parece diferir quando comparamos ratos e humanos, submetidos ao exercício Estudos em humanos apresentam manutenção ou até mesmo redução dessa variável durante o exercício e a exposição passiva ao calor, devido à diminuição da resistência periférica (Bezucha *et al.*, 1982; Brenner *et al.*, 1997; Forjaz e Tinucci, 2000). Contudo em ratos, estudos prévios também têm encontrado aumento da PAD em ratos submetidos ao exercício em esteira rolante (Lima, 2011; Pires *et al.*, 2013). Sabe-se que os ratos possuem razão entre a área de superfície por massa corporal, metabolismo basal e o $VO_{2máx}$ maiores em comparação aos humanos, portanto,

a necessidade de perfusão também é maior, o que pode explicar, pelo menos em parte, a diferença entre as espécies.

Nossos resultados mostraram que o aumento da FC foi maior durante o exercício quando comparado à hipertermia passiva. Embora a FC seja modulada reflexamente, durante o exercício o aumento desta variável é determinado ação conjunta de mecanorrecptores, metaborreceptores e pelo comando central, em virtude da maior necessidade de perfusão gerada pela contração muscular. A combinação de ambos os mecanismos neurais juntamente com vasodilatação muscular altera condutância vascular sistêmica devido ao aumento das necessidades dos músculos exercitados (Mcilveen, S. A. *et al.*, 2001). Portanto, a medida da FC durante o exercício físico é uma medida indireta da atividade simpática para o nodo sinusal. Em estudos prévios, a remoção das vias aferentes que induzem alterações reflexas da FC (desnervação sino-aórtica), não reduziu o aumento da FC induzido pelo exercício (Pires *et al.*, 2013). Em concordância com estes dados, nossos resultados mostram que o exercício físico por si, induz aumento da FC à margem do aumento da T_{int}.

O DPT em ambas as sessões experimentais, contudo, esse aumento foi exacerbado na sessão de exercício em comparação à exposição ao calor (Figura 4.6). O aumento do DPT na exposição ao calor se deveu principalmente ao aumento da PAS, enquanto que os aumentos concomitantes de FC e PAS refletiram um maior trabalho do miocárdio durante o exercício. Essa diferença, provavelmente, se deveu ao reajuste do set-point pressórico ou ponto de funcionamento do barorreflexo que ocorre no início do exercício. Esse reajuste é determinado pela necessidade de perfusão e ajustado pela ação de receptores periféricos e pelo comando central (Potts *et al.*, 2006; Raven *et al.*, 2006; Williamson, 2010).

Na sessão de exposição ao calor também encontramos aumentos na PAS e aumento da FC no final da sessão experimental. Por outro lado, foram encontrados menores valores de FC nessa situação experimental, em comparação ao exercício físico. Esses resultados sugerem que a ausência de estímulos periféricos musculares gera um menor estímulo aferente à área de controle cardiovascular no cérebro resultando em menor resposta eferente simpática ao nodo sinusal. Um estudo anterior (Sollers *et al.*, 2002) demonstrou que houve aumento da FC devido ao aumento da Tamb (35 ºC), e atribui essa resposta a uma retirada parassimpática. As diferentes respostas do controle cardiovasculares entre as situações experimentais estão refletidas no comportamento das variabilidades cardiovasculares.

No presente estudo a VPAS não apresentou diferenças no domínio do tempo, demonstrando um aumento em ambas as sessões experimentais (Tabela 4.2). Com relação às análises da densidade espectral no domínio da frequência, a sessão experimental de exercício apresentou aumento em todas as bandas de frequência (Figura 4.7), sugerindo que durante o exercício físico apresenta aumento da PA influenciado pela atividade simpática vascular e ventilatória. Alguns estudos relatam que o sistema de controle de termorregulação altera a PAS, induzindo características de oscilação espontânea das variabilidades cardiovasculares (Kitney R, 1974; Akselrod *et al.*, 1981).

Contudo, apesar do aumento da PAS e das alterações da VPAS em nosso estudo, não houve diminuição do ganho reflexo em nenhuma das sessões experimentais (Figura 4.9). Estudos mostram que a elevação da PAS e de sua variabilidade pode ser acompanhada pela redução da sensibilidade barorreflexa. Masset et al. (2000) relataram que o aumento da T_{int} para 41°C induziu um aumento da PAS em ratos e diminuição da sensibilidade barorreflexa. Lima (2011) mostrou que o exercício físico com velocidade constante de 18 m/min, realizado em T_{amb} 25ºC, foi capaz de aumentar a PAS e reduzir a sensibilidade barorreflexa. Esses resultados sugerem que, mesmo com a manutenção da sensibilidade das artérias pode haver aumento da PAS por meio de aumento da atividade simpática cardiovascular no intuito de manter o fluxo sanguíneo para a musculatura ativa e para dissipação de calor na cauda.

Na análise do domínio do tempo da VFC (Tabela 4.3) observou-se uma diminuição na média do IP mais pronunciada na sessão com o exercício, condizentes com maiores valores de FC apresentados nessa sessão experimental. Contudo os demais parâmetros do domínio do tempo (desvio-padrão, variância e RMSSD) não apresentaram diferenças. Esse é um resultado inesperado, pois a durante a realização do exercício ocorre uma diminuição da modulação vagal cardíaca e aumento da atividade simpática. Essas alterações sugerem que o desvio padrão e a variância (que refletem sobre a variabilidade total) e o RMSSD (que representa a modulação vagal) deveriam estar alterados. Acredita-se que a análise durante a execução do exercício é sempre um desafio, pois o sinal é considerado não estacionário, ou seja, não há estabilidade. A maioria dos estudos analisa a VFC em condições de estabilidade de sinal (Kamath *et al.*, 1991; Melanson, 2000; Yamamoto *et al.*, 2001). Isto ocorre porque os índices clássicos de análise no domínio do tempo pressupõem a estacionaridade do sinal de IP (Task-Force, 1996), o que não é observado durante a realização exercício físico. Contudo, um estudo prévio (Pires *et al.*, 2013) mediu a PAP durante a realização do exercício físico e

obteve êxito em analisar a modulação autonômica cardíaca, por meio das variabilidades cardiovasculares, da mesma forma que utilizamos no presente estudo.

No início da realização do exercício, a predominância da atividade vagal (parassimpática) identificada no repouso é progressivamente inibida. Estudos prévios (Jose, 1966; Ekblom e Hermansen, 1968; Ribeiro *et al.*, 1991; Araujo *et al.*, 1992) demonstraram, sob efeito de bloqueio farmacológico, que o aumento da FC nos primeiros segundos do exercício é quase que exclusivamente mediado pela inibição vagal, sem participação simpática expressiva, em parte decorrente dos diferentes tempos de latência desses dois ramos ao esforço físico. Com o decorrer da execução do exercício, ocorre o aumento da atividade simpática que sofre incrementos de acordo com a duração e intensidade do esforço.

A retirada vagal que controla o coração, no início do exercício, tem sido explicada pela irradiação cortical sobre a região bulbar (Gallo Junior *et al.*, 1989), enquanto que com o incremento adicional na FC ocorre devido à intensificação simpática no coração e tem sido explicada pela ação de catecolaminas circulantes (Rowell *et al.*, 1986) e pela ação metaborreflexa e mecanorreflexa aferente iniciada na musculatura esquelética ativa (Middlekauff *et al.*, 1997; Mitchell, 2012). Todos esses mecanismos agem em sintonia para atender a demanda metabólica do exercício.

Esse balanço autonômico realizado durante o exercício físico reflete diretamente nas análises da densidade espectral no domínio da frequência da VFC, demonstrado pelo aumento na Razão BF/AF comparado ao repouso (Gráfico D da Figura 4.11). Além disso, foi demonstrado aumento nas bandas de BF e AF (Gráficos B e C da Figura 4.11), sugerindo que as alterações da modulação autonômica cardíaca durante o exercício físico sejam influenciadas também pela atividade barorreceptora e ventilatória, resultados que não são encontrados na exposição ao calor testada no presente estudo.

Ao compararmos as sessões experimentais podemos observar que exercício apresenta maiores valores da densidade espectral nas bandas BF e AF e da Razão BF/AF comparado à sessão de exposição ao calor, indicando que a ação barorreflexa, a atividade ventilatória e o balanço simpatovagal, fatores que influenciam o comportamento dessas bandas (Task-Force, 1996), são mais pronunciados durante o exercício.

Brenner et al. (Brenner *et al.*, 1997) corroboram com nossos resultados ao realizarem dois protocolos experimentais em humanos: 1) exposição ao ambiente temperado (15 min a 23 ºC) seguida de exposição ao ambiente quente (15 min a 40 ºC);

2) exercício em ambiente temperado (15 min a 23 ºC) seguido por exercício em ambiente quente (15 min a 40 ºC). Nesse estudo foi demonstrado que a exposição ao calor não foi capaz de alterar a FC e consequentemente manteve o balanço autonômico. Contudo o exercício em ambiente temperado foi capaz de aumentar a FC e a Razão BF/AF em relação à exposição passiva ao calor, enquanto que o exercício no calor exacerbou essa diferença.

A banda de MBF, que tem sua resposta influenciada pela termorregulação e SRA (Task-Force, 1996), não apresentou alterações em ambos os protocolos. Apesar da alteração dos parâmetros termorregulatórios, evidenciado por elevação da T_{ip} e da T_{cauda}, e das alterações da FC, não foram encontradas diferenças nessa banda de frequência em nenhuma das sessões. Como ambos os protocolos foram eficientes em aumentar a FC, e o aumento desse parâmetro durante a hipertermia passiva é atribuído a uma retirada parassimpática (Crandall *et al.*, 2000; Sollers *et al.*, 2002), nossos resultados sugerem que o aumento da T_{ip} causada pelo exercício físico (intensidade de 80% da Vmáx) exerce um papel secundário no comportamento da FC a cada batimento.

Cabe ressaltar que há uma discussão se a banda MBF realmente sofre influência da termorregulação. Os resultados encontrados na literatura são controversos, provavelmente por essa banda de frequência ser menos explorada em comparação às bandas de BF e AF. Sollers et al. (2002) submeteram homens e mulheres a protocolos de exposição passiva ao calor e ao frio por 30 min (35 ºC e 12 ºC, respectivamente), e demonstraram aumento da MBF em homens somente com a exposição ao ambiente de 12 ºC. Ainda nesse estudo, o calor foi capaz de aumentar a banda de AF e diminuir a banda BF.

Fleisher et al. (1996) submeteram humanos a dois protocolos, um com resfriamento da T_{int} e T_{pele}, e outro com resfriamento da T_{pele} sem alterações na T_{int}. Os autores demonstraram um aumento da MBF e diminuição da FC somente quando houve diminuição de ambos os parâmetros termorregulatórios. Quando a T_{int} não é alterada, houve aumento da BF enquanto que a MBF não se alterou. Esse resultado sugere as alterações nas faixas de frequências específicas do espectro de potência depende da forma do desafio termorregulatório e não termorregulação *per se* (Fleisher *et al.*, 1996).

Kinugasa e Hyrayanagi (1999) ao submeteram humanos à exposição aos ambientes frio (18 ºC), temperado (23 ºC) e quente (40 ºC e 60 ºC) demonstraram alterações na densidade espectral, por meio da diminuição da banda AF e aumento da Razão BF/AF da VFC durante exposição ao ambiente quente (60 °C). Contudo a banda

de MBF da VFC apresentou aumento na exposição ao frio e nenhuma alteração devido ao calor. Já essa mesma banda na VPAS apresentou aumento nas temperaturas de 40 ºC e 60 ºC.

Yamamoto et al. (2001) não analisaram a banda de MBF, mas encontraram aumento da FC e alterações na AF da VFC e da Razão BF/AF ao expor humanos ao calor de 35 ºC WBGT. Contudo a temperatura a qual nossos animais foram submetidos ao ambiente quente foi menor (35 °C), e provavelmente não suficiente para causar diferenças na densidade espectral da FC.

Os resultados do presente estudo aliado aos resultados apresentados pela literatura nos fazem questionar se essa banda realmente reflete a melhor análise da influência das alterações da temperatura sobre a VFC. Uma possível alternativa seria utilizar a banda de BF da VFC e a banda de MBF da VPAS para analisar a interação termorregulatória/cardiovascular, a partir das alterações da ação barorreflexa e dos ajustes do fluxo sanguíneo para suprir as demandas metabólicas do exercício, bem como da necessidade de dissipar calor na periferia em exposição ao ambiente quente.

Com o objetivo de buscar uma relação entre a modulação autonômica cardíaca e a T_{int}, nós ajustamos a análise da PAS, da FC, do DPT e das variabilidades cardiovasculares em função das ΔT_{ip} em cada sessão experimental. Foram encontradas poucas diferenças em relação às análises em função do tempo. Uma delas foi que a PAS apresentou aumento na análise em função do tempo em ambas as sessões experimentais, mas não apresentou diferenças na sessão de hipertemia passiva. Contudo, quando comparamos essa variável entre as sessões experimentais não foram encontradas diferenças.

Além disso, a banda de BF da densidade espectral da VFC não apresentou diferença durante a realização do exercício na análise em função das ΔT_{ip}, diferentemente da análise em função do tempo, quando foi observado um aumento durante o exercício em comparação ao repouso.

Apesar dessas diferenças, podemos sugerir que devido à maiores valores da FC e do DPT, além de maiores valores de densidade espectral das variabilidades cardiovasculares, que a ação neural conjunta exercida pela aferências musculares periféricas advinda da contração muscular e pelo comando central, na sessão de hipertermia induzida por exercício físico, exerce maior influência sobre a resposta da modulação autonômica cardíaca, quando comparado às respostas cardiovasculares da hipertermia passiva.

Logo, o aumento de T_{int} não parece ser primordial para que ocorra uma alteração nas variabilidades cardiovasculares. Esses resultados divergem dos achados de Mowery et al. (2011) que observaram uma diminuição da VFC em humanos devido à variação de T_{int}. Nesse estudo foi demonstrada uma diminuição no desvio padrão dos intervalos R-R à medida que indivíduos em repouso apresentaram maiores valores de T_{int} (38 ºC, 39 ºC e 40 ºC em comparação à 37 ºC). Contudo, nesse estudo a análise foi realizada em indivíduos hospitalizados com traumas, fato esse que pode ter influência nos resultados.

6. CONCLUSÃO

Ambas as situações experimentais foram capazes de aumentar a modulação autonômica cardíaca em ratos. Contudo, esse aumento foi mais pronunciado na hipertermia induzida por exercício físico quando comparada à hipertermia passiva por exposição ao ambiente quente.

Esses resultados se deveram ao aumento da atividade simpática cardíaca e diminuição da atividade parassimpática cardíaca. Além disso, foram observados aumentos nas bandas de muito baixa e baixa frequência da variabilidade da pressão arterial sistólica no protocolo de exercício, quando comparado à hipertermia passiva. Já a banda de muito baixa frequência da variabilidade da frequência cardíaca e a sensibilidade barorreflexa não apresentaram diferenças entre as situações experimentais.

7. REFERÊNCIAS

ADREANI, C. M.; HILL, J. M.; KAUFMAN, M. P. Responses of group III and IV muscle afferents to dynamic exercise. **Journal of Applied Physiology,** v. 82, n. 6, p. 1811-1817, June 1, 1997 1997.

AKSELROD, S. et al. Power spectrum analysis of heart rate fluctuation: a quantitative probe of beat-to-beat cardiovascular control. **Science,** v. 213, n. 4504, p. 220-2, Jul 10 1981.

ALONSO, D. D. O. et al. Comportamento da freqüência cardíaca e da sua variabilidade durante as diferentes fases do exercício físico progressivo máximo. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia,** v. 71, p. 787-792, 1998.

ARAUJO, C. G. S.; NOBREGA, A. C. L.; CASTRO, C. L. B. Heart rate responses to deep breathing and 4-seconds of exercise before and after pharmacological blockade with atropine and propranolol. **Clinical Autonomic Research,** v. 2, n. 1, p. 35-40, 1992/02/01 1992.

ARMITAGE, P.; BERRY, G. The planning os statistical investigations. In: (Ed.). Statistical methods in medical research. **Oxford, Blackwell.**, p. 179-185, 1987.

BALTHAZAR, C. H. et al. Performance-enhancing and thermoregulatory effects of intracerebroventricular dopamine in running rats. **Pharmacology Biochemachinal Behavior,** v. 93, n. 4, p. 465-9, Oct 2009.

BARNEY, C. C.; WEST, D. R. Control of water intake in thermally dehydrated rats. **Physiology & Behavior,** v. 48, n. 3, p. 387-395, 1990. ISSN 0031-9384.

BEZUCHA, G. R. et al. Comparison of hemodynamic responses to static and dynamic exercise. **Journal of Applied Physiology,** v. 53, n. 6, p. 1589-1593, December 1, 1982 1982.

BLIGH, J.; JOHNSON, K. G. Glossary of therms for thermal physiology. **Journal of Applied Physiology,** v. 35, n. 6, p. 20, dez 01 1973.

BOULANT, J. A. Neuronal basis of Hammel's model for set-point thermoregulation. **Journal of Applied Physiology,** v. 100, n. 4, p. 1347-54, Apr 2006.

BRENNER, I. K.; THOMAS, S.; SHEPHARD, R. J. Spectral analysis of heart rate variability during heat exposure and repeated exercise. **European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology,** v. 76, n. 2, p. 145-56, 1997.

COOTE, J. H.; HILTON, S. M.; PEREZ-GONZALEZ, J. F. The reflex nature of the pressor response to muscular exercise. **The Journal of Physiology,** v. 215, n. 3, p. 789-804, July 1, 1971.

CRANDALL, C. G.; ZHANG, R.; LEVINE, B. D. Effects of whole body heating on dynamic baroreflex regulation of heart rate in humans. **American Journal Physiology Heart Circulation Physiology,** v. 279, n. 5, p. H2486-92, Nov 2000.

CRISAFULLI, A. et al. Hemodynamics during active and passive recovery from a single bout of supramaximal exercise. **European Journal of Applied Physiology,** v. 89, n. 2, p. 209-216, Abr 2003.

DRUMMOND, L. R. **Temperatura cerebral e ajustes termorregulatórios em ratos espontaneamente hipertensos durante o exercício físico em ambientes temperado e quente**. 2014. 94 p. (Mestrado em Educação Física). Departamento de Educação Física, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

EKBLOM, B.; HERMANSEN, L. Cardiac output in athletes. **Journal Applied Physiology,** v. 25, n. 5, p. 619-25, Nov 1968.

FAZAN, R., JR. et al. Sildenafil acts on the central nervous system increasing sympathetic activity. **Journal Applied Physiology,** v. 104, n. 6, p. 1683-9, Jun 2008.

FLEISHER, L. A. et al. Thermoregulation and heart rate variability. **Clinical Science (London),** v. 90, n. 2, p. 97-103, Fev 1996.

FORJAZ, C. L. M.; TINUCCI, T. A medida da pressão arterial no exercício. **Revista Brasileira de Hipertensão,** v. 7, n. 1, p. 79-87, 2000.

GAGNON, D. et al. Aural canal, esophageal, and rectal temperatures during exertional heat stress and the subsequent recovery period. **Journal Athletic Training,** v. 45, n. 2, p. 157-63, Mar-Abr 2010.

GALLO JUNIOR, L. et al. Sympathetic and parasympathetic changes in heart rate control during dynamic exercise induced by endurance training in man. **Brazilian Journal Medicine Biological Research,** v. 22, n. 5, p. 631-43, 1989.

GONZÁLEZ-ALONSO, J.; CRANDALL, C. G.; JOHNSON, J. M. The cardiovascular challenge of exercising in the heat. **The Journal of Physiology,** v. 586, n. 1, p. 45-53, Jan 2008.

GONZALEZ-ALONSO, J. et al. Influence of body temperature on the development of fatigue during prolonged exercise in the heat. **Journal of Applied Physiology,** v. 86, n. 3, p. 1032-9, Mar 1999.

GOODWIN, G. M.; MCCLOSKEY, D. I.; MITCHELL, J. H. Cardiovascular and respiratory responses to changes in central command during isometric exercise at constant muscle tension. **The Journal of Physiology,** v. 226, n. 1, p. 173-190, Out 1972.

GORDON, C. J. Thermal biology of the laboratory rat. **Physiology Behavior,** v. 47, n. 5, p. 963-91, Mai 1990.

_____. **Temperature regulation in laboratory rodents.** Cambridge: Cambridge University Press, 1993.

HEESCH, C. M.; CAREY, L. A. Acute resetting of arterial baroreflexes in hypertensive rats. **American Journal Physiology,** v. 253, n. 4 Pt 2, p. 974-9, Out 1987.

HON, E. H.; LEE, S. T. Electronic evaluations of the fetal heart rate patterns preceding fetal death, further observation. **American Journal of Obstetrics and Gynecology,** v. 87, p. 814-26, 1963.

HYNDMAN, B. W.; KITNEY, R. I.; SAYERS, B. M. Spontaneous rhythms in physiological control systems. **Nature,** v. 233, n. 5318, p. 339-41, Out 1971.

IELLAMO, F. Neural mechanisms of cardiovascular regulation during exercise. **Autonomic Neuroscience,** v. 90, n. 1-2, p. 66-75, Jul 2001.

ISHIWATA, T. et al. Functional role of the preoptic area and anterior hypothalamus in thermoregulation in freely moving rats. **Neuroscience Letters,** v. 325, n. 3, p. 167-70, Jun 2002.

JENSEN-URSTAD, K. et al. Pronounced resting bradycardia in male elite runners is associated with high heart rate variability. **Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports,** v. 7, n. 5, p. 274-278, 1997.

JOSE, A. D. Effect of combined sympathetic and parasympathetic blockade on heart rate and cardiac function in man. **American Journal Cardiology,** v. 18, n. 3, p. 476-8, Set 1966.

KAMATH, M. V.; FALLEN, E. L.; MCKELVIE, R. Effects of steady state exercise on the power spectrum of heart rate variability. **Medicine Science Sports Exercise,** v. 23, n. 4, p. 428-34, Abr 1991.

KAMOSINSKA, B.; NOWICKI, D.; SZULCZYK, P. Control of the heart rate by sympathetic nerves in cats. **Journal Autonomic Nervous System,** v. 26, n. 3, p. 241-9, Abr 1989.

KAUFMAN, M. et al. Discharge Properties of Group III and IV Muscle Afferents. In: GANDEVIA, S.;PROSKE, U., *et al* (Ed.). **Sensorimotor Control of Movement and Posture**: Springer US, v.508, cap. 4, p.25-32, 2002.

KINUGASA, H.; HIRAYANAGI, K. Effects of skin surface cooling and heating on autonomic nervous activity and baroreflex sensitivity in humans. **Experimental Physiology,** v. 84, n. 2, p. 369-77, Mar 1999.

KITNEY R, I. The analysis and simulation of the human thermoregulatory control system. **Medical & biological engineering,** v. 12, n. 1, p. 57-65, Jan 1974.

KOBAYASHI, S. Temperature-sensitive neurons in the hypothalamus: A new hypothesis that they act as thermostats, not as transducers. **Progress in Neurobiology,** v. 32, n. 2, p. 103-135, 1989.

KROGH, A.; LINDHARD, J. The regulation of respiration and circulation during the initial stages of muscular work. **The Journal of Physiology,** v. 47, n. 1-2, p. 112-136, Out 1913.

KUIPERS, H. et al. Variability of aerobic performance in the laboratory and its physiologic correlates. **International Journal Sports Medicine,** v. 6, n. 4, p. 197-201, Ago 1985.

LACERDA, A. C. R.; MARUBAYASHI, U.; COIMBRA, C. C. Nitric oxide pathway is an important modulator of heat loss in rats during exercise. **Brain Research Bulletin,** v. 67, n. 1–2, p. 110-116, 2005.

LEWIS, A. C.; RUBINI, M. E.; BEISEL, W. R. A method for rapid dehydration of rats. **Journal of Applied Physiology,** v. 15, n. 3, p. 525-527, Mai 1960.

LIMA, M. R. et al. Chronic sympathectomy of the caudal artery delays cutaneous heat loss during passive heating. **Neuroscience Letters,** v. 537, p. 11-6, Mar 2013.

LIMA, M. R. M. **Ausência crônica da inervação vascular cutânea ompromete a dissipação de calor durante o exercício físico** 2011. 104 (Mestrado em Educação Física). Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

LIMA, N. R. et al. Prolactin release during exercise in normal and adrenodemedullated untrained rats submitted to central cholinergic blockade with atropine. **Horm Behavior,** v. 40, n. 4, p. 526-32, Dez 2001.

MASSETT, M. P. et al. Vascular reactivity and baroreflex function during hyperthermia in conscious rats. **American Journal of Physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology,** v. 279, n. 4, p. R1282-9, Out 2000.

MCCLESKEY, E. W. Thermoreceptors: recent heat in thermosensation. **Currently Biology,** v. 7, n. 11, p. R679-81, Nov 1997.

MCILVEEN, S. A.; HAYES, S. G.; KAUFMAN, M. P. Both central command and exercise pressor reflex reset carotid sinus baroreflex. **American Journal Physiology Heart Circulation Physiology,** v. 280, n. 4, p. H1454-63, Abr 2001.

MCILVEEN, S. A.; HAYES, S. G.; KAUFMAN, M. P. Both central command and exercise pressor reflex reset carotid sinus baroreflex. **American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology,** v. 280, n. 4, p. H1454-H1463, Abr, 2001.

MELANSON, E. L. Resting heart rate variability in men varying in habitual physical activity. **Medicine Science Sports Exercise,** v. 32, n. 11, p. 1894-901, Nov 2000.

MIDDLEKAUFF, H. R. et al. Impact of Acute Mental Stress on Sympathetic Nerve Activity and Regional Blood Flow in Advanced Heart Failure: Implications for 'Triggering' Adverse Cardiac Events. **Circulation,** v. 96, n. 6, p. 1835-1842, Set 1997.

MITCHELL, J. H. Neural control of the circulation during exercise: insights from the 1970-1971 Oxford studies. **Experimental Physiology,** v. 97, n. 1, p. 14-9, Jan 2012.

MORRISON, S. F.; NAKAMURA, K.; MADDEN, C. J. Central control of thermogenesis in mammals. **Experimental Physiology,** v. 93, n. 7, p. 773-797, Jul 2008.

MOWERY, N. T. et al. Core temperature variation is associated with heart rate variability independent of cardiac index: A study of 278 trauma patients. **Journal of Critical Care,** v. 26, n. 5, p. 534.e9-534.e17, 2011.

NAGASHIMA, K. et al. Neuronal circuitries involved in thermoregulation. **Autonomic Neuroscience,** v. 85, n. 1-3, p. 18-25, Dez 2000.

NÓBREGA, A. C. et al. Cardiovascular responses to active and passive cycling movements. **Medicine and science in sports and exercise,** v. 26, n. 6, p. 709-714, 1994.

OKAZAWA, M. et al. Ionic Basis of Cold Receptors Acting as Thermostats. **The Journal of Neuroscience,** v. 22, n. 10, p. 3994-4001, Mai 2002.

OOSTING, J.; STRUIJKER-BOUDIER, H. A.; JANSSEN, B. J. Validation of a continuous baroreceptor reflex sensitivity index calculated from spontaneous fluctuations of blood pressure and pulse interval in rats. **Journal Hypertension,** v. 15, n. 4, p. 391-9, Abr 1997.

OSAKA, T.; KOBAYASHI, A.; INOUE, S. Thermogenesis induced by osmotic stimulation of the intestines in the rat. **Journal Physiology,** v. 532, n. Pt 1, p. 261-9, Abr 2001.

PIRES, W. et al. Intracerebroventricular physostigmine enhances blood pressure and heat loss in running rats. **Journal Physiology Pharmacology,** v. 58, n. 1, p. 3-17, Mar 2007.

PIRES, W. et al. Physical Exercise Performance in Temperate and Warm Environments Is Decreased by an Impaired Arterial Baroreflex. **PLoS One,** v. 8, n. 8, p. e72005, 2013.

POTTS, A. et al. 'Sex for life'? Men's counter-stories on 'erectile dysfunction', male sexuality and ageing. **Sociology Health Illness,** v. 28, n. 3, p. 306-29, Abr 2006.

POTTS, J. T. Inhibitory neurotransmission in the nucleus tractus solitarii: implications for baroreflex resetting during exercise. **Experimental Physiology,** v. 91, n. 1, p. 59-72, Jan 2006.

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

PUMPRLA, J. et al. Functional assessment of heart rate variability: physiological basis and practical applications. **Internationa Journal Cardiology,** v. 84, n. 1, p. 1-14, Jul 2002.

RADAELLI, A. et al. Adrenergic origin of very low-frequency blood pressure oscillations in the unanesthetized rat. **American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology,** v. 290, n. 1, p. H357-H364, Dez 2005.

RAVEN, P. B.; FADEL, P. J.; OGOH, S. Arterial baroreflex resetting during exercise: a current perspective. **Experimental Physiology,** v. 91, n. 1, p. 37-49, Jan 2006.

RIBEIRO, J.; IBÁÑEZ, J.; STEIN, R. Autonomic nervous control of the heart rate response to dynamic incremental exercise: evaluation of the Rosenblueth-Simeone model. **European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology,** v. 62, n. 2, p. 140-144, Mar 1991.

RODRIGUES, A. G. et al. Intracerebroventricular physostigmine facilitates heat loss mechanisms in running rats. **Journal Applied Physiology,** v. 97, n. 1, p. 333-8, Jul 2004.

ROMANOVSKY, A. Skin temperature: its role in thermoregulation. **Acta Physiology,** v. 210, n. 3, p. 498-507, Mar 2014.

ROMANOVSKY, A. A. et al. The Transient Receptor Potential Vanilloid-1 Channel in Thermoregulation: A Thermosensor It Is Not. **Pharmacological Reviews,** v. 61, n. 3, p. 228-261, Set 2009.

ROMANOVSKY, A. A.; IVANOV, A. I.; SHIMANSKY, Y. P. Selected contribution: ambient temperature for experiments in rats: a new method for determining the zone of thermal neutrality. **Journal Applied Physiology,** v. 92, n. 6, p. 2667-79, Jun 2002.

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

ROWELL, L. B. et al. Is peak quadriceps blood flow in humans even higher during exercise with hypoxemia? **American Journal Physiology,** v. 251, n. 5 Pt 2, p. 1038-44. Nov 1986.

SAEKI, A. et al. Negative inotropism of hyperthermia increases oxygen cost of contractility in canine hearts. **American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology,** v. 279, n. 6, p. 2855-64, Dez 2000.

SANDERCOCK, G. R.; BROMLEY, P. D.; BRODIE, D. A. Effects of exercise on heart rate variability: inferences from meta-analysis. **Medicine Science Sports Exercise,** v. 37, n. 3, p. 433-9, Mar 2005.

SCHWIMMER, H.; GERSTBERGER, R.; HOROWITZ, M. Nitric oxide and angiotensin II: neuromodulation of thermoregulation during combined heat and hypohydration stress. **Brain Reserach,** v. 1006, n. 2, p. 177-89, Mai 2004.

SOLLERS, J. J., III et al. Examining changes in HRV in response to varying ambient temperature. **Engineering in Medicine and Biology Magazine, IEEE,** v. 21, n. 4, p. 30-34, 2002.

STAUSS, H. M. et al. Frequency response characteristics of whole body autoregulation of blood flow in rats. **American Journal Physiology Heart Circulation Physiology,** v. 296, n. 5, p. 1607-16, Mai 2009.

SZEKELY, M. Skin temperature skin blood flow: assessment of thermoregulatory changes. **Acta Physiol Hungarian** v. 68, p. 284, 1986.

TASK-FORCE. Heart rate variability. Standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. **European Heart Journal,** v. 17, n. 3, p. 354-381, 1996.

TAYLOR, J. A. et al. Mechanisms underlying very-low-frequency RR-interval oscillations in humans. **Circulation,** v. 98, n. 6, p. 547-55, Ago 1998.

WAKI, H. et al. Automation of analysis of cardiovascular autonomic function from chronic measurements of arterial pressure in conscious rats. **Experimental Physiology,** v. 91, n. 1, p. 201-13, Jan 2006.

WEBB, P. The physiology of heat regulation. **American Journal Physiology,** v. 268, n. 4 Pt 2, p. R838-50, Abr 1995.

WILLIAMSON, J. W. The relevance of central command for the neural cardiovascular control of exercise. **Experimental Physiology,** v. 95, n. 11, p. 1043-8, Nov 2010.

WILMORE, J. H.; COSTILL, D. L. **Fisiologia do Esporte e do Exercício.** São Paulo: Manole, 2001.

WILSON, N. C. et al. **Colonic and tail-skin temperature responses of the rat at selected running speeds**. p. 571-575, 1978.

WOLF, M. M. et al. Sinus arrhythmia in acute myocardial infarction. **Medicine Journal Aust,** v. 2, n. 2, p. 52-3, Jul 1978.

YAMAMOTO, K. et al. Effects of endurance training on resting and post-exercise cardiac autonomic control. **Medicine Science Sports Exercise,** v. 33, n. 9, p. 1496-502, Set 2001.

YOSHIMOTO, T. et al. Frequency components of systolic blood pressure variability reflect vasomotor and cardiac sympathetic functions in conscious rats. **J Physiol Sci,** v. 61, n. 5, p. 373-83, Set 2011.

YOUNG, A. A.; DAWSON, N. J. Evidence for on-off control of heat dissipation from the tail of the rat. **Can J Physiol Pharmacol,** v. 60, n. 3, p. 392-8, Mar 1982.

ZHANG, Y.-H. et al. Effect of Midbrain Stimulations on Thermoregulatory Vasomotor Responses in Rats. **The Journal of Physiology,** v. 503, n. 1, p. 177-186, 1997.