

RENATA CRISTINA HABENCHUS BARROS

**INTERAÇÃO ENTRE TEMPERATURA CORPORAL E
RESPOSTAS VENTILATÓRIAS FRENTE À
HIPERCAPNIA EM TRÊS ESPÉCIES DE ROEDORES**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do grau de mestre em Ciências Fisiológicas, Área de concentração: Fisiologia



Ribeirão Preto

1998

Universidade de São Paulo
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto

**RESPOSTAS VENTILATÓRIAS FRENTE À
HIPERCAPNIA EM TRÊS ESPÉCIES DE ROEDORES**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do grau de mestre em Ciências Fisiológicas, Área de concentração: Fisiologia

Aluna: **Renata Cristina Habenchus Barros**

Orientador: **Prof. Dr. Luiz Guilherme de Siqueira Branco**

Ribeirão Preto

1998

A Deus, pela vida; aos meus pais, Fernando e Isabel, irmãos, Helen, Rô e Lú e namorado, Bri, pelo amor, incentivo e dedicação; ao meu orientador, Guilherme, pela confiança, disposição e interesse; e à minha professora Beth, pela formação, apoio e coorientação.

***“Que os nossos esforços
desafiem as impossibilidades.
Lembrai-vos de que as grandes
proezas da história foram
conquistas do que parecia
impossível”***

Charlie Chaplin

AGRADECIMENTO ESPECIAL

À FAPESP, pelo apoio financeiro, confiança, atenção e eficiência na prestação de auxílios da reserva técnica.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Luiz Guilherme de Siqueira Branco, pela orientação séria, formativa, respeitosa e estimulante.

À Profa. Dra. Elisabeth S. de Oliveira, que, como professora, amiga e conselheira, muito influenciou minha decisão de seguir a carreira acadêmica.

Ao Prof. Dr. Pedro L. B. Rocha, pela coleta dos roedores silvestres e, principalmente, pela ajuda, que rompeu a barreira da distância, na redação do texto referente a estes animais.

Ao Prof. Dr. Augusto Abe, pelo empréstimo do analisador de oxigênio, sem o qual, resultados importantes deixariam de existir.

Aos companheiros de laboratório: Priscila, Kênia, Alexandre, Adriana, Camila, Leila, Gisele e Carolina, que tornam o ambiente de trabalho ainda mais rico e agradável.

A todos professores, técnicos e funcionários do departamento de Fisiologia da FORP-USP, que em muitos momentos colaboraram para o andamento dos experimentos.

Aos professores deste departamento, que direta ou indiretamente contribuíram para a minha formação até o momento.

Ao CNPq, pelo apoio financeiro.

ÍNDICE

Resumo

1 INTRODUÇÃO	01
1.1 Conceito, Ocorrência e Mecanismos de Hipotermia.....	03
1.2 Ventilação Pulmonar.....	07
1.3 Relação Hipotermia versus Ventilação.....	08
1.4 Ocorrência da Hipercapnia na Natureza.....	08
1.5 Mecanismos Fisiológicos.....	15
2. OBJETIVOS	18
3 MATERIAIS E MÉTODOS	20
3.1 Animais Experimentais.....	21
3.2 Ventilação Pulmonar.....	22
3.3 Temperatura Corporal	24
3.4 Consumo de Oxigênio.....	24
3.5 Protocolos Experimentais	25
3.5.1 Medidas de Ventilação e Temperatura Corporal.....	25
3.5.1.1 Experimento comparando as três espécies de Roedores.....	25
3.5.1.2 Experimento utilizando o inibidor da via do NO.....	26
3.5.2 Medidas de Consumo de Oxigênio.....	26
3.5.2.1 Experimento comparando as três espécies de Roedores.....	26
3.5.2.2 Experimento utilizando o inibidor da via do NO.....	27

3.6 Análise Estatística dos Resultados	27
4 RESULTADOS	29
4.1 Experimento comparando as três espécies de roedores.....	30
4.2 Experimento utilizando o inibidor da via do NO.....	34
5 Discussão	39
5.1 Comparações entre as Espécies.....	41
5.1.1 Efeito da Hipercapnia sobre a Ventilação.....	41
5.1.2 Efeito da Hipercapnia sobre a Temperatura Corporal.....	43
5.1.3 Efeito da Hipercapnia sobre o Consumo de Oxigênio.....	45
5.1.4 Interação entre Ventilação, Temperatura Corporal e Consumo de Oxigênio frente à hipercapnia.....	46
5.2 A Via do Óxido Nítrico.....	48
5.2.1 Efeito de L-NNA e da Hipercapnia sobre a Ventilação.....	48
5.2.2 Efeito de L-NNA e da Hipercapnia sobre a Temperatura Corporal.....	51
5.2.3 Efeito de L-NNA e da Hipercapnia sobre o Consumo de Oxigênio.....	53
5.2.4 Efeito de L-NNA sobre a Interação entre Ventilação, Temperatura Corporal e Consumo de Oxigênio frente à hipercapnia.....	53
6 CONCLUSÃO.....	56
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59
Summary	

RESUMO

O roedor semifossorial recém descrito, *Proechimys yonenagae*, nativo da Caatinga, foi comparado com *P. iheringi*, um roedor de superfície, da Mata Atlântica, quanto às interações entre temperatura corporal (T_c), ventilação (V_E) e consumo de O_2 (VO_2), durante hipercapnia (5 ou 10% de CO_2). Ratos Wistar também foram usados para avaliar a participação da via do óxido nítrico (NO) na hipotermia e hiperventilação induzidas por hipercapnia. A V_E foi medida por pletismografia, a T_b , inserindo um sensor no reto do animal e o VO_2 , utilizando um analisador de O_2 . Nos ratos Wistar, as medidas foram realizadas antes e após a injeção intraperitoneal do inibidor da NO sintase N^G -nitro-L-arginine (L-NNA) e após subsequente exposição à 5% de CO_2 . Durante a inalação de ar, a V_E não diferiu entre os três roedores, a T_c de ratos Wistar foi maior em relação à de *P. yonenagae* e os valores de VO_2 de *P. yonenagae* e *P. iheringi* foram significativamente menores do que o dos ratos Wistar. A hipercapnia causou hiperventilação nas três espécies, hipotermia em *P. yonenage* e ratos Wistar, mas nenhuma alteração de VO_2 foi observada nos três roedores. Uma queda significativa de T_c foi obtida após injeção de L-NNA ($40 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), acompanhada por uma redução do VO_2 . A Hipercapnia não afetou a hipotermia causada por L-NNA, o qual também não modificou a resposta ventilatória à 5% de CO_2 . Comparações entre as duas espécies silvestres sugerem que *P. yonenagae* apresenta poucas adaptações fisiológicas à hipercapnia das tocas. Ambas as respostas geradas pela hipercapnia, hiperventilação e hipotermia, parecem não compartilhar o NO como mediador, embora, a via L-arginina-NO participe, independentemente, da função respiratória normal e da termorregulação.

INTRODUÇÃO

A antiga crença de que características funcionais são comuns aos homens e animais teve destaque especial durante o século XIX, quando a fisiologia tornou-se definitivamente experimental. Segundo Claude Bernard (1957), “a escolha inteligente de um animal, oferecendo um arranjo anatômico feliz, é freqüentemente essencial para o sucesso de um experimento e para a solução de um problema fisiológico importante”. Após a segunda metade deste século, com o Darwinismo, os estudos das adaptações fisiológicas e morfológicas adquiriram uma perspectiva evolutiva e, a fisiologia comparativa floresceu como um novo ramo da fisiologia. A ênfase nas adaptações a ambientes extremos e estressantes, dos fisiologistas comparativos, passou a refletir não somente os interesses da fisiologia humana, a respeito das reações do organismo humano exposto a tais ambientes, mas também a suprir novos conceitos sobre a interação dos animais e seu habitat.

A presente dissertação tem sua base na fisiologia comparativa e o tema escolhido consiste nas respostas respiratórias e metabólicas de roedores silvestres ao estresse da hipercapnia ambiental. Estes animais são nativos do Brasil, os quais revelam histórias filogenética e de adaptação a seus habitats muito interessantes. Além disto, o conhecimento científico sobre estes animais é praticamente inexistente.

Em geral, por razões de viabilidade, a fisiologia comparativa restringe-se ao relato das respostas apresentadas pelos animais frente as condições experimentais específicas, em detrimento do estudo dos mecanismos responsáveis por elas. Com a intenção de tentar avançar até os

mecanismos, ratos de laboratório também estão incluídos entre os animais utilizados neste estudo.

Conceito, Ocorrência e Mecanismos de Hipotermia

A regulação da temperatura corporal (T_c) de endotérmicos ocorre basicamente pela ativação de processos fisiológicos, sendo a contribuição comportamental menos marcante, quando comparados com animais ectotérmicos. Deste modo, o controle da T_c de mamíferos resulta de um balanço entre mecanismos de produção de calor, seja através do metabolismo celular como, por exemplo, no tecido adiposo marrom, ou do tremor muscular e, de mecanismos de perda de calor como a sudorese, a ofegação e a vasodilatação periférica (WOOD & MALVIN, 1992).

Uma alteração da T_c de endotérmicos muito conhecida é a febre, que compreende um aumento regulado da T_c , como resposta adaptativa frente a infecções. Esta resposta é benéfica por causar alta proliferação de células de defesa e aumentar a efetividade do interferon, um agente antiviral (WOOD & MALVIN, 1992). Ectotérmicos também podem aumentar sua T_c , selecionando um ambiente mais quente, quando inoculados com pirógenos (KLUGER, 1975; REYNOLDS & CASTERLIN, 1982). Tal febre comportamental foi descrita pela primeira vez por KLUGER (1975), que ao submeter lagartos, *Dipsosaurus dorsalis*, a temperaturas ambientes neutra (38°C), baixa (34 a 36°C) e alta (40 a 42°C), demonstrou que a elevação da T_c após infecção bacteriana experimental aumenta significativamente a taxa de sobrevivência destes répteis. O efeito benéfico da febre ficou, então, estabelecido.

Um dos interesses da presente dissertação é o estudo, em endotérmicos, do que pode ser chamada de resposta oposta à febre: a hipotermia. Ela consiste na queda da T_c , com valor adaptativo, frente a vários fatores adversos, como hipercapnia (BRANCO & WOOD, 1994), hipóxia (cf. WOOD, 1995, 1991), anemia (WOOD, 1990), desidratação (MALVIN & WOOD, 1991), lactato (PÖRTNET et al., 1994) e substâncias tóxicas (GORDON, 1988).

O conceito de que o fenômeno da hipotermia é muitas vezes benéfico não é novo. Em alguns procedimentos clínicos ou em cirurgias, principalmente cardíacas e cerebrais, a hipotermia forçada é utilizada. Porém, tem sido documentado que a hipotermia pode ocorrer espontaneamente, como uma resposta controlada frente a condições estressantes, o que parece ainda mais favorável e intrigante. A elevação da demanda de O_2 devido à ativação de respostas termogênicas, que durante uma hipotermia forçada representa uma desvantagem, é abolida, pelo menos em algumas espécies, durante uma hipotermia induzida por hipóxia e hipercapnia (WOOD, 1995). Ou seja, contrariamente, os mecanismos fisiológicos pelos quais hipóxia ou hipercapnia causam queda de T_c , em mamíferos, consistem na inibição da termogênese (caindo a demanda de O_2) e no aumento da perda de calor (WUNNENBERG & BALTRUSCHAT, 1982; GAUTIER et al., 1986). BERTMAN e colaboradores (1980) mostraram que há preservação do balanço energético cerebral em ratos hipóxicos e hipotérmicos, o que não ocorre com ratos hipóxicos com T_c fixada em seu valor basal.

Mudanças na Tc têm grande efeito sobre a taxa metabólica basal dos animais (KROGH, 1914). Se o coeficiente de temperatura (Q_{10}) de um organismo equivale a 2,5, a sua taxa metabólica basal muda cerca de 10% a cada modificação da sua Tc em 1°C. Assim sendo, quando o suprimento ou o transporte de O₂ estão limitados, febre ou hipertermia levam ao agravamento do quadro. Por outro lado, um grau moderado de hipotermia mostra-se favorável, especialmente para manutenção das funções cerebrais e cardíacas, por vários mecanismos: redução da demanda de O₂; aumento da afinidade O₂-hemoglobina (saturação arterial); redução de processos de alto custo energético, como aumento da ventilação e do trabalho cardíaco (WOOD & MALVIN, 1992).

A hipóxia é o fator mais estudado quanto ao seu efeito sobre a termorregulação, mas só recentemente os mecanismos responsáveis pela hipotermia induzida por hipóxia começaram a ser sugeridos. Entre os candidatos a modulador estão a arginina vasopressina (COOPER et al., 1979; CLARK & FEWELL, 1994), a adenosina (WANG et al., 1990) e o lactato (PÖRTNER et al., 1994); porém, nenhum deles parece desencadear uma resposta hipotérmica completa. BRANCO (1997) demonstrou que hipoglicemia induz hipotermia comportamental no sapo *Bufo paracnemis*, uma resposta que parece ser mediada pela exclusão de glicose intracelular, preferencialmente, de sítios centrais. Esta hipotermia deve ser benéfica, por reduzir a demanda oxidativa das células, durante a falta de glicose. Foi verificado também que a inibição da fosforilação oxidativa, provocada pela infusão de cianeto no quarto ventrículo do sapo *Bufo marinus*, deve ser um

importante fator desencadeador da hipotermia induzida por hipóxia (BRANCO & MALVIN, 1996). Os dois últimos relatos correlacionados sugerem que a queda do ATP formado e/ou aumento da adenosina (WANG et al., 1990) no sistema nervoso central contribuem para o desencadeamento da hipotermia. A regulação da T_c pelo sistema nervoso central parece envolver muitos mediadores, mas, a diversidade de estímulos adversos, tanto biológicos como ambientais, que levam à hipotermia sugerem a possibilidade de uma via final comum de ativação e a enfatizam como uma resposta adaptativa para reduzir a demanda de O₂ (WOOD, 1995), a perda de água (STEINER et al., 1998) ou a toxicidade química (GORDON et al., 1998). Neste sentido, evidências indicam o oxído nítrico (NO) como forte candidato a neuromodulador comum da hipotermia (BRANCO et al., 1997, STEINER et al., 1998).

O interesse desta dissertação está voltado para a hipotermia induzida por hipercapnia, pois, em geral, existem menos relatos desta em relação àquela causada por hipóxia.

TAMAKI e NAKAYAMA (1987) verificaram, em ratos, que há uma tendência de maior atividade de neurônios da área pré-óptica que influenciam a regulação da temperatura corporal, durante a hipercapnia do que durante a hipóxia. Estudos feitos em cobáias recém-nascidas mostraram que a temperatura retal começa a diminuir quando esses animais são expostos a 6% de CO₂ (FARKAS & DONHOFFER, 1975). Outros, com ratos, indicaram inibição completa de termogênese, não causada por tremor,

quando os animais foram submetidos a misturas gasosas contendo 10% ou mais de CO₂ (PEPELKO & DIXON, 1974).

Ventilação Pulmonar

O aumento da ventilação pulmonar (V_E) é uma das respostas imediatas em situações de hipercapnia (PAPPENHEIMER et al., 1965; WEST, 1985). Trata-se de um evento de regulação principalmente central, onde a elevação da pressão parcial de CO₂ no sangue arterial ($P_a\text{CO}_2$), provocada pela hipercapnia aguda, estimula os quimiorreceptores centrais direta (SHAMS, 1985) ou indiretamente, via formação de íons hidrogênio no líquido (WEST, 1985). Estes sensores estão localizados no tronco cerebral, próximo à superfície ventral do bulbo (CONROE, 1977) e, suas eferências estimulam núcleos respiratórios principalmente bulbares, resultando num aumento da V_E (WEST, 1985).

Os quimiorreceptores periféricos, situados nos corpos carotídeos e aórticos (GONZÁLEZ et al., 1995), podem ser estimulados em resposta à acidose metabólica ou respiratória, mas seu principal estímulo é a queda na pressão parcial de O₂ sangüínea. De fato, a ausência dos quimiorreceptores arteriais, em animais experimentais desnervados e em pacientes que sofreram remoção cirúrgica dos corpos carotídeos, afeta apenas cerca de 10 a 20% da resposta ventilatória total à hipercapnia. Outros estudos, realizados em humanos, indicam que aproximadamente 1/3 a 1/2 do desencadeamento da hiperventilação pode vir dos quimiorreceptores periféricos, quando mudanças rápidas da $P_a\text{CO}_2$ ocorrem. Sendo assim, são

os quimiorreceptores centrais os principais responsáveis pelo estabelecimento da ventilação basal e da resposta à inalação de CO₂ a longo prazos, enquanto que os quimiorreceptores periféricos parecem ter importância mais a curto prazos (LEVITZKY, 1995).

Relação Hipotermia versus Ventilação

Muitos dos experimentos visando o estudo da interação entre T_c e V_E foram realizados em condições de hipóxia, a curto prazo (~ 8-10 minutos) e em animais anestesiados, com a temperatura corporal (T_c) artificialmente controlada (OLIEVIER et al., 1982; MASKREY, 1990; FRAPPELL et al., 1995). Recentemente, WOOD (1995) verificou a ausência de respostas ventilatórias em ratos conscientes expostos, por uma hora, a misturas hipóxicas contendo de 15 a 7% de O₂. Este período de tempo mais prolongado foi suficiente para que a T_c destes animais caísse de 38 para 34°C. Parece plausível o fato de uma hipóxia crônica induzir hipotermia e assim passar a abolir as respostas ventilatórias, poupando energia, que se fosse utilizada poderia agravar os efeitos desta condição desfavorável. Apesar de inúmeras especulações, como a hiperventilação e a hipotermia interagem entre si ainda permanece pouco entendido. A presente dissertação pretende contribuir com informações adicionais sobre a relação de ambas as respostas frente à hipercapnia, em animais conscientes.

Ocorrência da Hiperapnia na Natureza

Durante hibernação, tanto animais endotérmicos como ectotérmicos estão expostos a fatores como hiperapnia, hipóxia, acúmulo de lactato,

entre outros, sendo todos capazes de desencadear a hipotermia (BRANCO, 1995). Sabe-se que, em mamíferos hibernantes, ocorre uma grande retenção de CO₂ em relação àquela em animais ativos e, a acidose resultante pode ser a responsável pela redução do metabolismo energético, em adição à diminuição da Tc. Desta forma, o dióxido de carbono poderia estar modulando ambas, hipotermia e queda metabólica, durante hibernação de mamíferos (MORITA et al., 1992).

Roedores, geralmente, vivem entocados e podem enfrentar, nesse microambiente, condições de hipóxia e hipercapnia. KUHNEN (1986) mediu, no interior de tocas fechadas de hamsters (*Mesocricetus auratus*), concentrações médias de $5,7 \pm 1,2\%$ de CO₂ e $15,1 \pm 1,2\%$ de O₂, sendo os valores extremos iguais a 10,8% de CO₂ e 10% de O₂. Estas concentrações são similares às encontradas em tocas de outros roedores (WILLIAMS & RAUSCH, 1973; LECHNER, 1976; BOGGS et al., 1984). Mamíferos fossoriais e semifossoriais geralmente apresentam diferenças funcionais e estruturais em relação àqueles que habitam a superfície, que podem ser interpretadas como adaptações genéticas a alta pressão parcial de CO₂ (P_{CO₂}) e baixa pressão parcial de O₂ (P_{O₂}) do ambiente das tocas (MORTOLA, 1991). Entre estas adaptações estão: deslocamento da curva O₂-hemoglobina para a esquerda, hematócrito alto, efeito Bohr acentuado e redução das respostas ventilatórias a hipercapnia e hipóxia (ARIELI & AR, 1979; WALKER et al., 1985).



Fig. 1: Indivíduo de *Proechimys yonenagae*, o roedor da caatinga. Notar sua longa cauda com pincel de pêlos na extremidade e suas longas patas posteriores.



Fig. 2: Indivíduo de *Proechimys iheringi*, o roedor da Mata Atlântica.

Os animais experimentais do presente estudo, os roedores *Proechimys yonenagae* (Fig. 1) e *P. iheringi* (Fig. 2) são especialmente interessantes neste aspecto. O gênero *Proechimys* (Rodentia: Echimyidae) compreende, em geral, animais restritos a áreas de florestas na região neotropical. Porém, uma espécie recentemente descrita, *P. yonenagae*, parece representar a única exceção deste padrão. Ela habita uma região de

dunas fixas na caatinga semi-árida (Fig. 3 e 4), no interior do estado da Bahia e suas características morfológicas autapomórficas são convergentes em relação àsquelas de pequenos mamíferos de áreas de deserto do mundo todo (ROCHA, 1995). Entre estas características estão algumas que relacionam-se à mimetização de micro-habitat méxicos, como a escavação e utilização de sistemas de galerias e, às estratégias de proteção contra predadores em ambiente aberto, como a restrição das atividades epígeas às proximidades da toca, incremento da acuidade auditiva (aumento das bulas timpânicas), locomoção ricocheteante (aumento das patas posteriores e da cauda, a qual possui um pincel de pêlos na extremidade) e coloração semelhante a do substrato (Fig. 1). Outras características indicam redução de gasto energético, provavelmente devido à baixa produtividade primária das dunas, entre as quais estão a queda do consumo individual em relação à massa corporal menor e a economia energética em função da locomoção saltatória. Dentro deste aspecto, merece atenção o fato de que os indivíduos da espécie *P. yonanagae* apresentam uma capacidade de construir tocas (Fig. 3B) complexas e extensas, no solo arenoso, que podem atingir 1,5 metro ou mais de profundidade, onde eles passam praticamente todo o período diurno (ROCHA, 1995). Por outro lado, *P. iheringi* é uma espécie filogeneticamente próxima – ambas estão incluídas no subgênero monofilético *P. Trinomys* (ROCHA, 1995) – mas que vive na floresta tropical da Mata Atlântica (Fig. 5) e que mantém o padrão plesiomórfico do gênero. Apesar do hábito terrestre de superfície (Fig. 5B), alguns *Proechimys* de floresta podem construir ninhos em troncos de árvores caídas (EMMONS,

1982) ou mesmo dentro de tocas de outros animais (GUILLOTIN, 1982), porém, ENDERS (1935) sugere que eles não são aptos para cavar. Nenhuma evidência de utilização de tocas por *P. iheringi* foi encontrada durante observações de campo.

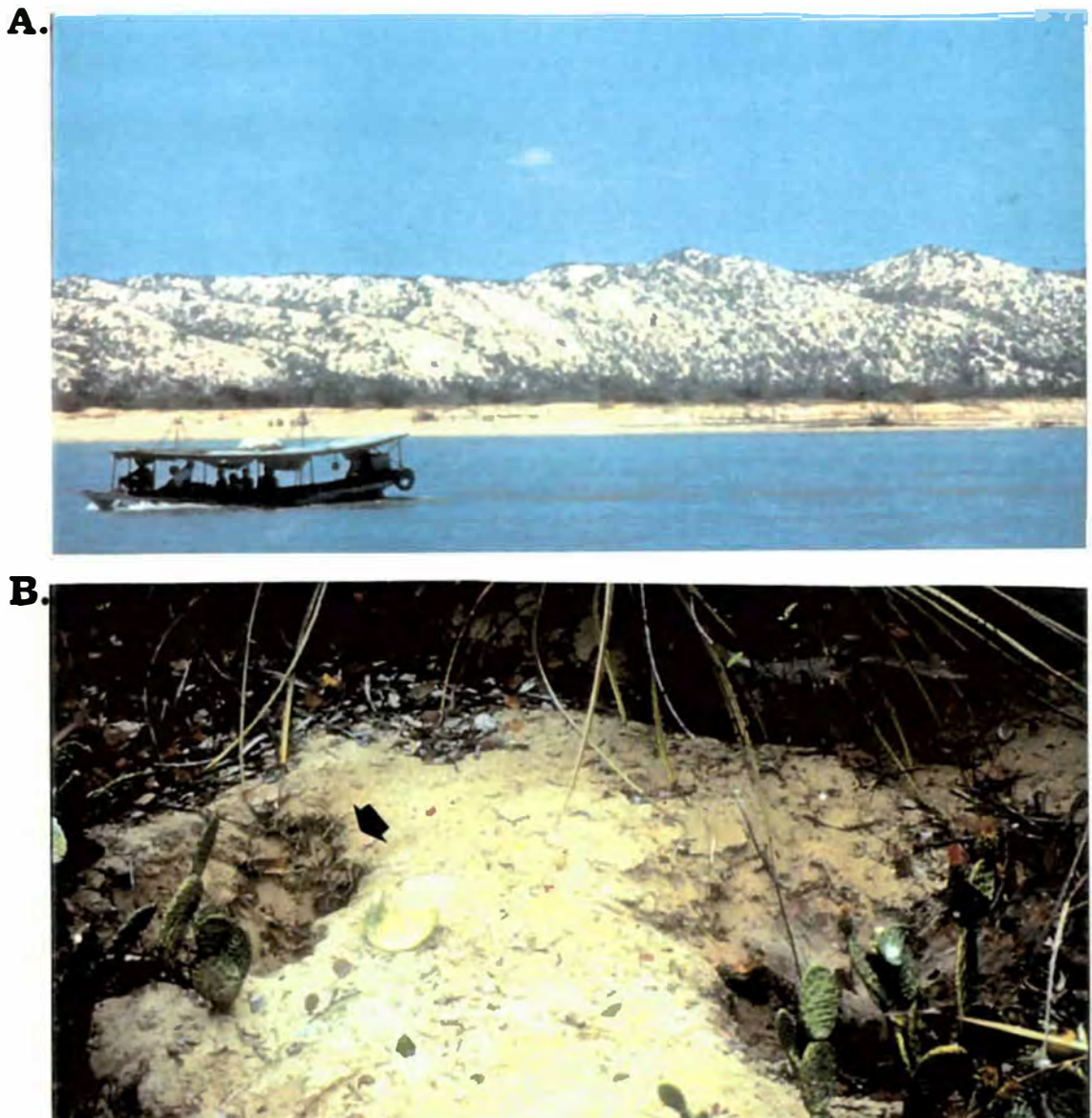


Fig. 3: Caatinga pode ser dividida em caatinga rochosa e caatinga arenosa. Esta última, de menor dimensão, consiste numa região de dunas fixas, onde vive a espécie *Proechimys yonenagae* (A). O painel B mostra a abertura de uma toca deste roedor.

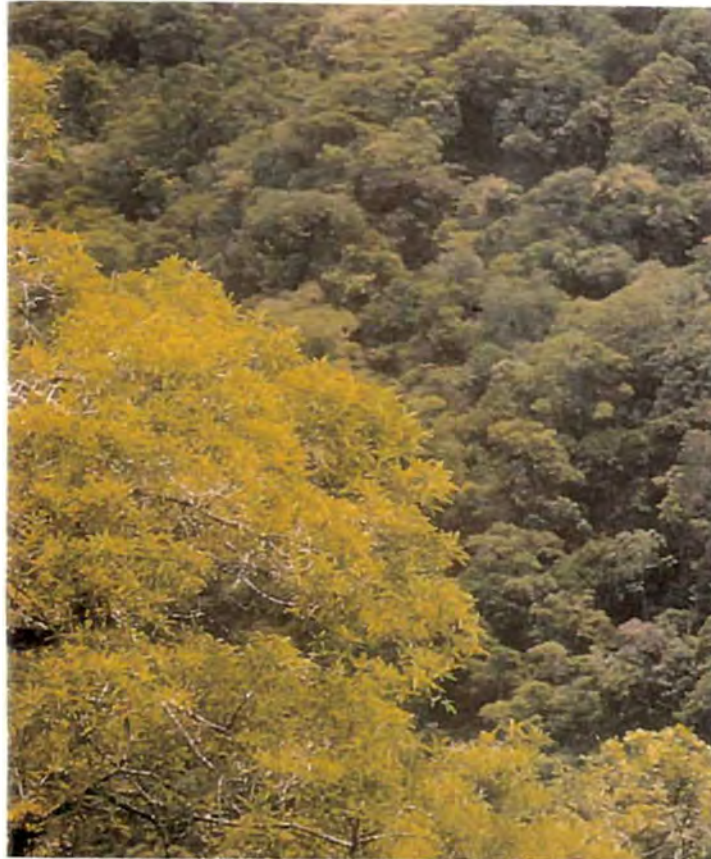


Fig 4: Distribuição da Caatinga e da Mata Atlântica no território brasileiro. Os espécimes de *P. yonenagae* foram coletados na região do município de Ibiraba, interior da Bahia e os de *P. iheringi* em Iguape, litoral de São Paulo.

Não se sabe, de fato, se os *P. yonenagae* hibernam, mas para evitar, principalmente, as amplas oscilações de temperatura do solo, passam a maior parte do tempo no interior das tocas, saindo apenas à noite para alimentação e reprodução (ROCHA, 1995). Assim, é provável que, freqüentemente, tenham que enfrentar condições de hipercapnia e hipóxia. Por outro lado, *P. iheringi* são animais de hábitos de superfície, que estão adaptados à vida num ambiente de floresta, onde não há oscilações consideráveis de temperatura do solo, nem restrição de água ou alimentos. Não necessariamente habitando tocas, o contato de *P. iheringi* com ambientes hipercápnicos e hipóxicos deve ser raro quando comparado a *P. yonenagae*. Desta forma, o *Proechimys* da floresta representa um importante

referencial das respostas fisiológicas a serem medidas, por possuir um parentesco evolutivo muito próximo daquele do *Proechimys* da caatinga, porém selecionado a viver em condições ambientais díspares.

A.



B.



Fig. 5: Figura da floresta tropical da Mata Atlântica, onde vive a espécie *Proechimys iheringi*. Em A observa-se a densidade da vegetação e, em B, a riqueza de material orgânico do solo.

O presente estudo avaliou os efeitos da hipercapnia sobre a ventilação pulmonar, a temperatura corporal e o consumo de oxigênio em *P. yonenagae* e *P. iheringi*, considerando o habitat de cada animal. *P. yonenagae* deve ser adaptado à hipercapnia, apresentando menor aumento de ventilação, maior queda de Tc e de consumo de oxigênio. Para caracterizar as influências da hipercapnia sobre estes diversos parâmetros, *Rattus norvegicus* (linhagem Wistar), foi também utilizado como o modelo animal padrão em estudos de fisiologia.

Mecanismos Fisiológicos

A fisiologia comparativa apresenta-se, às vezes, limitada pela disponibilidade restrita de animais. Por isto, o estudo dos mecanismos responsáveis pelas respostas encontradas durante certa condição experimental torna-se inviável. Tentando enriquecer o presente trabalho, ratos Wistar foram utilizados com o objetivo de acessar um possível mecanismo fisiológico desencadeado em situações de hipercapnia.

Especificamente, foi examinado se a via do NO participa das respostas respiratórias e metabólicas frente à inalação de CO₂. A escolha do NO, como um mediador envolvido nos mecanismos fisiológicos da interação entre temperatura corporal e respostas respiratórias e metabólicas frente à hipercapnia, baseia-se em dados da literatura. O fator vasodilatador derivado do endotélio, que definitivamente foi identificado como o NO (MONCADA et al., 1991), iniciou uma revolução no conhecimento de vários sistemas de mamíferos desde sua descoberta (FURCHGOTT & ZAWADZKI, 1980). Tem sido

descrito que a via do NO tem participação não somente no controle da pressão arterial (MONCADA et al., 1991), mas também em transmissões nervosas (SNYDER, 1992), em reações imunológicas (MONCADA et al., 1991), na detecção da dor (FERREIRA *et al.*, 1991), no comportamento alimentar (DE LUCA et al., 1995), na função cortico-medular da adrenal (RIVIER & SHEN, 1994), na febre (SCAMMELL et al., 1996) e, inclusive, na termorregulação (BRANCO et al., 1997; MILLS et al., 1997; BANSINATH et al., 1998) e no controle da respiração (GOZAL et al., 1996; TEPPEMA et al., 1997).

A óxido nítrico sintase (NOS), enzima responsável pela síntese do NO a partir de L-arginina, está presente em regiões centrais e periféricas relacionadas à regulação da Tc (VINCENT & KIMURA, 1992) e da ventilação pulmonar (DUN et al., 1994). A via do NO participa de vários sistemas que podem interferir na termorregulação, como o tecido adiposo marrom (NAGASHIMA et al., 1994), a musculatura lisa dos vasos (TAYLOR & BISHOP, 1993) e algumas áreas do sistema nervoso central, especialmente o hipotálamo (DE LUCA et al., 1995). Quanto ao controle da ventilação, a NOS está presente nas regiões respiratórias bulbares do núcleo do trato solitário (NTS), do nucleus ambiguus e do núcleo paragigantocelular lateral e nas regiões respiratórias pontinas dos núcleos parabrâquial medial e lateral (VINCENT et al., 1992; DUN et al., 1994), onde vias responsáveis pela função respiratória parecem contar com o NO, como neuromodulador. Na periferia, o NO atua como um transmissor inibitório no corpo carotídeo (CHUNG et al., 1994), é essencial para a função contrátil do diafragma (MORRISON et al., 1996) e altera a pressão arterial, que pode influenciar a ventilação,

provavelmente, por efeitos mediados pelos barorreceptores (cf. TEPPEMA, 1997).

Afim de verificar se o NO é realmente um forte candidato a mediador comum na hiperventilação e hipotermia induzidas pela hipercapnia, ratos Wistar, não anestesiados, sofreram inibição da via do NO por meio da administração de *N*^ω-nitro-L-arginina (L-NNA), um inibidor inespecífico da NOS que atravessa a barreira hematoencefálica (cf. TEPPEMA et al., 1997).

OBJETIVOS

O primeiro objetivo do presente estudo foi testar a hipótese que *P. yonenagae*, o roedor da caatinga, deve apresentar adaptações à hipercapnia, respondendo, então, com o menor aumento de ventilação pulmonar, maior queda de temperatura corporal e de consumo de oxigênio, quando comparado com *P. iheringi* e ratos Wistar.

O segundo objetivo do presente estudo foi testar a hipótese que o NO é um mediador comum em ambas respostas induzidas pela hipercapnia: hiperventilação e hipotermia.

Este estudo deve vir a contribuir significativamente para o conhecimento da fisiologia e biologia de roedores brasileiros.

MATERIAIS E MÉTODOS

Animais experimentais

Rattus norvegicus (Rodentia: Muridae) machos, adultos, com peso corporal igual a $243,0 \pm 22,6$ g (média \pm desvio padrão), da linhagem Wistar foram fornecidos pelo Biotério Geral do Campus da USP de Ribeirão Preto. Espécimes de ambas as espécies, *Proechimys yonenagae* e *P. iheringi* (Rodentia: Echimyidae) foram obtidos a partir de coletas realizadas pelo grupo do Prof. Dr. Pedro L. B. da Rocha, zoólogo da Universidade Federal da Bahia. O trabalho de campo para a captura de *P. yonenagae* ocorreu no município de Ibiraba, interior do estado da Bahia (Fig. 4), numa região de dunas fixas (Domínio Morfoclimático das Caatingas). A coleta de *P. iheringi* restringiu-se à região de Mata Atlântica do município de Iguape (Fig. 4), litoral do estado de São Paulo. Apenas indivíduos adultos e machos de *P. yonenagae* e *P. iheringi* foram utilizados nestes experimentos, com pesos corporais de $137,6 \pm 10,2$ g e $223,9 \pm 23,6$ g (média \pm desvio padrão), respectivamente.

Todos os roedores foram acondicionados em caixas plásticas cobertas por maravalha, individualmente, no caso dos animais silvestres, ou em grupos de 3 animais (ratos Wistar), à temperatura ambiente controlada de $25 \pm 1^\circ\text{C}$ (média \pm desvio padrão) e expostos a um ciclo claro-escuro de 12 horas. Água e alimento ficaram à disposição.

Nos experimentos para acessar a participação da via do NO no efeito da hipercapnia, apenas ratos Wistar foram utilizados, os quais foram divididos em dois grupos: um grupo experimental tratado com o inibidor não específico da NOS (L-NNA) e um grupo controle tratado com salina (150 mM

NaCl). O grupo experimental compreendeu três subgrupos, de acordo com a dose do bloqueador utilizada.

Ventilação Pulmonar

As medidas de V_E foram obtidas por pletismografia de corpo inteiro (BARTLETT & TENNEY, 1970). Este método baseia-se no princípio de que um animal, dentro de uma câmara vedada, tem seu volume de ar corrente inspirado aquecido, da temperatura da câmara à temperatura corporal e saturado com vapor de água; enquanto na expiração, seu volume de ar corrente é esfriado até a temperatura da câmara, havendo perda de vapor de água. Estas situações de aquecer e umidecer o ar inspirado e de esfriar e desidratar o ar expirado são acompanhadas por pequenas mudanças de pressão, que podem ser detectadas por um transdutor sensível. A câmara de acrílico (Fig. 6), onde o animal foi colocado, podendo se mover livremente, possui conexão com um transdutor diferencial de pressão (Validyne 451871) e com outra câmara de referência, a qual evita artefatos de medida provocados pela variação de pressão dentro do laboratório como, por exemplo, a abertura de portas. Além disto, a câmara é equipada com um termômetro e uma seringa para calibração de acordo com a equação abaixo:

$$V_T = \frac{P_T}{P_K} \times V_K \times \frac{T_C (P_B - P_A)}{T_C (P_B - P_A) - T_A (P_B - P_C)}$$

Definição dos símbolos da equação:

V_T : Volume de ar corrente.

V_K : Volume de ar injetado na câmara do animal para calibração.

P_T : Deflexão de pressão associada com cada volume de ar corrente.

PK: Deflexão de pressão associada ao volume injetado para calibração.

Tc: Temperatura corporal (temperatura retal).

TA: Temperatura do ar dentro da câmara do animal.

PB: Pressão barométrica.

Pc: Pressão de vapor d'água à temperatura corporal.

PA: Pressão de vapor d'água à temperatura da câmara do animal.

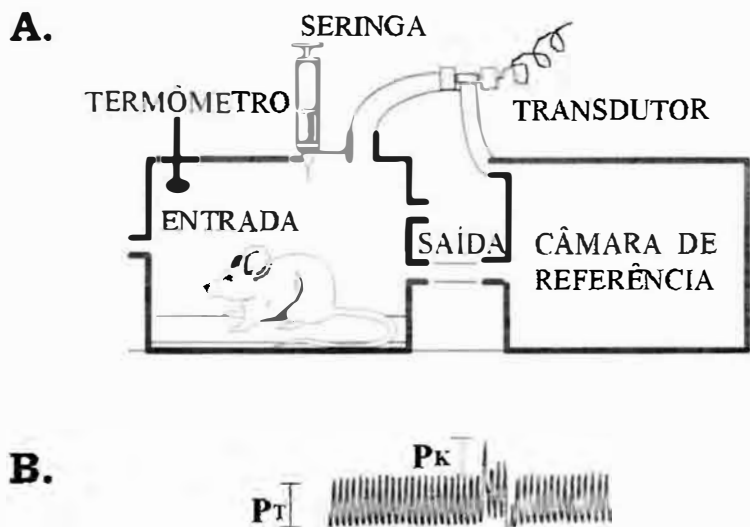


Fig. 6: Aparelho usado para medir ventilação pulmonar em ratos não anestesiados (A) e ilustração do registro de ventilação pulmonar com calibração (B). Detalhes do procedimento estão descritos no texto.

Os valores do volume de ar corrente (V_T), obtidos a partir da equação acima, foram multiplicados também por um fator de correção, que consiste na razão entre o volume da câmara menos o volume do animal sobre o volume da câmara.

Durante cada registro de V_E , de no máximo 2 min, realizado em um polígrafo (Narcotrace 80) equipado por pré-amplificadores, a câmara

permaneceu totalmente vedada.

Segundo BARTLETT & TENNEY (1970) e MALAN (1973) medidas diretas de V_E por pneumotacografia resultam em valores bastante próximos daqueles adquiridos por pletismografia.

Temperatura Corporal

A T_c dos roedores foi medida de acordo com GORDON e FOGELSON (1991) inserindo-se um sensor de temperatura no reto do animal. Como o procedimento é manual as medidas foram executadas rapidamente para evitar o aumento da T_c por estresse ou condução; além disto, antes dos experimentos os animais foram habituados à medida.

Consumo de Oxigênio

O consumo de oxigênio (VO_2) foi medido pela técnica de respirometria fechada, através do uso de um analisador de O_2 (Taylor Servomex, tipo OA. 272). O animal foi colocado na mesma câmara de acrílico (câmara do animal, Fig. 6). Durante cada medida, a câmara teve que ficar totalmente vedada e, usando uma seringa graduada (60 ml), seis amostras consecutivas de ar (30 ml) foram retiradas de dentro da câmara, em intervalos de 3 minutos. Desta forma a câmara permaneceu fechada por 15 min; período necessário para coletar dado suficiente e obter uma relação linear. Cada amostra de ar da câmara foi, então, injetada no interior do analisador de O_2 , promovendo leituras em porcentagem de oxigênio (% de O_2). Em seguida um gráfico para cada animal foi construído, contendo a relação entre tempo e % de O_2 , onde o coeficiente angular da curva formada indicou o VO_2 (Fig. 7).

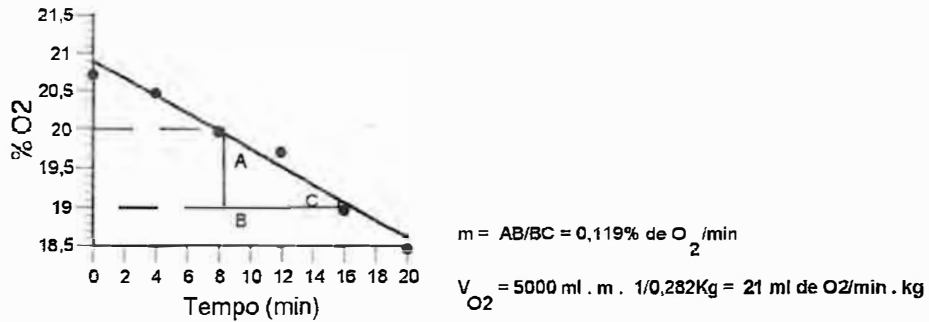


Fig. 7: Relação entre tempo e % de O_2 , a partir da qual calculou-se o consumo basal de O_2 (VO_2) de um rato Wistar de peso corporal igual a 282g.

Protocolos Experimentais

Medidas de V_E e T_c foram realizadas em experimentos distintos da medida de VO_2 , separados por um intervalo de tempo de uma semana. Todos os experimentos consistiram na exposição dos animais inicialmente ao ar atmosférico umidificado, por meio de um fluxo gerado por uma bomba de aquário e, em seguida, na exposição dos mesmos a misturas gasosas normóxicas hipercápnicas de 5 ou 10% de CO_2 (AGA), denominadas hipercapnia branda ou severa respectivamente. A execução diária dos experimentos ocorreu, aleatoriamente, entre às 7:00 e 19:00 horas.

1. Medidas de Ventilação e Temperatura Corporal

1.1. Experimento comparando as três espécies de roedores

Cada animal foi colocado no interior da câmara de pletismografia e a medida controle de T_c foi obtida após cerca de 30 minutos, período necessário para o animal se acalmar, durante o qual havia um fluxo de ar atmosférico umedecido. Subseqüentemente a V_E basal foi medida e cada mistura gasosa teste (5 ou 10% de CO_2 , em experimentos independentes)

perfundiu a câmara por 30 minutos. A V_E também foi obtida após 5, 15 e 30 minutos de exposição às misturas hipercápnicas e ao término do experimento, uma outra medida de Tc era efetuada.

1.2. Experimento utilizando o inibidor da via do NO

Ratos Wistar foram individualmente acondicionados dentro da câmara de pletismografia, que perfundida com ar atmosférico, por aproximadamente 30 minutos, possibilitou a obtenção das medidas basais de Tc e V_E . Em seguida, os ratos experimentais receberam injeção intraperitoneal de N^w-nitro-L-arginina (Sigma, USA) nas doses de 10, 20 ou 40 mg.kg⁻¹ de peso corporal em 0,5 ml de salina, enquanto que os animais controle foram tratados com um mesmo volume de salina. Duas horas após as administrações, novas medidas de Tc e V_E foram realizadas. Este período de tempo foi escolhido porque, em geral, 2 a 2,5 horas após a injeção de L-NNA são necessárias para permitir inibição máxima da NOS (TEPPEMA *et al.*, 1997). Subseqüentemente, a câmara com o animal foi submetida ao fluxo de uma mistura gasosa contendo 5% de CO₂ por 30 minutos. No final do experimento V_E e Tc foram novamente medidas.

2. Medidas de Consumo de Oxigênio

2.1. Experimento comparando as três espécies de roedores

Cada animal foi colocado no interior da câmara de acrílico ventilada com ar atmosférico, por 30 minutos no mínimo, possibilitando a obtenção da medida basal de VO₂. Após este período de aclimatação, cada mistura

gasosa teste (5 ou 10% de CO₂, em experimentos independentes) perfundi a câmara por 30 minutos. No final do experimento uma outra medida de VO₂ foi realizada.

2.2. Experimento utilizando o inibidor da via do NO

Após 30 minutos de aclimação, dentro da câmara de acrílico ventilada com ar atmosférico, a medida basal de VO₂ de cada rato Wistar foi efetuada. Em seguida, os três subgrupos experimentais receberam injeção i.p. de 10, 20 ou 40 mg.kg⁻¹ por peso corporal de L-NNA e o grupo controle recebeu injeção i.p. de salina. Uma outra medida de VO₂ foi obtida 2 horas após as administrações. Subseqüentemente, a câmara foi ventilada por uma mistura gasosa de 5% de CO₂, durante 30 minutos. No final do experimento o VO₂ foi medido novamente.

Análise estatística dos resultados

Todos os dados são apresentados como média ± erro padrão da média, salvo quando houver identificação. Para comparações simultâneas do efeito de 5 ou 10% de CO₂ com o ar e das três espécies sobre o volume de ar corrente, a frequência respiratória, a ventilação pulmonar, a temperatura corporal e o consumo de oxigênio foi aplicada a análise de variância multivariada de duas-vias (MANOVA; fatores: espécie e porcentagem de dióxido de carbono inspirado), seguida do teste de Duncan. O efeito da injeção de L-NNA ou salina sobre o volume de ar corrente, a frequência respiratória, a ventilação pulmonar e a temperatura corporal e o

consumo de oxigênio foi avaliado por meio da análise de variância de uma-
via (ANOVA), seguida do teste de múltiplas comparações Tukey-Kramer
(para V_T , f_R , V_E e T_c) ou do teste Kruscal-Wallis (para VO_2). Ainda sobre o
experimento de administração de L-NNA, comparações ponto a ponto dos
valores médios de V_T , f_R , V_E , T_c e VO_2 antes e depois da hipercapnia, foram
analisadas pelo test *t*-Student. Todos os valores de $P < 0,05$ foram
considerados significativos.

RESULTADOS

Durante todos os experimentos, a temperatura da câmara do animal foi de $25,81 \pm 0,69^{\circ}\text{C}$ (média \pm desvio padrão), enquanto que a ambiente foi de $24,62 \pm 0,76^{\circ}\text{C}$ (média \pm desvio padrão).

Experimento comparando as três espécies de roedores

Não houve diferença significativa entre a V_E basal das três espécies de roedores. A exposição às misturas contendo 5 ou 10% de CO_2 causaram aumentos de V_E em todas as espécies, mas não de maneira idêntica (Fig. 8 e 9). A comparação do efeito da hipercapnia com o ar e das três espécies revelou diferenças significativas na V_E ($P < 0,05$; MANOVA de duas vias).

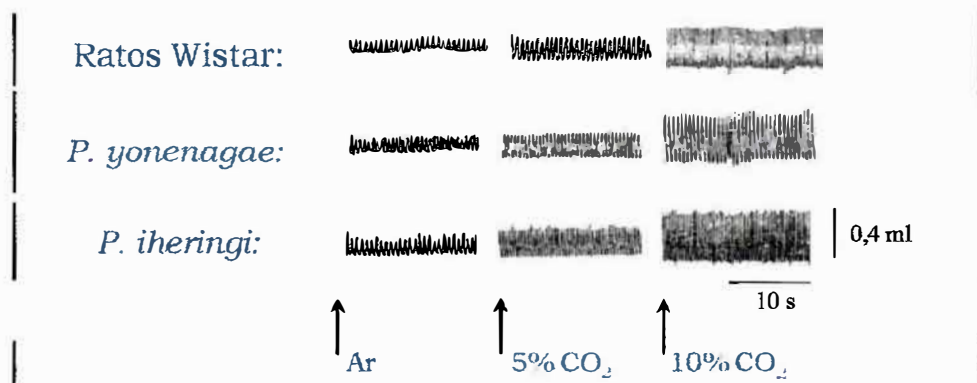


Fig. 8: Ilustração dos registros de ventilação pulmonar de rato Wistar, *P. yonenagae* e *P. iheringi* expostos ao ar atmosférico e a misturas gasosas normóxicas hipercápnicas, contendo 5 ou 10% de CO_2 .

P. yonenagae apresentou aumentos significativos da V_E após 30 minutos de exposição a 5% de CO_2 e após 15 minutos de exposição a 10%

de CO_2 , enquanto que *P. iheringi* após 15 e 5 minutos de exposição a 5 e 10% de CO_2 , respectivamente. Ratos Wistar mostraram valores de V_E significativamente elevados após 5 minutos de exposição a 5 e 10% de CO_2 . Durante os 30 minutos de hipercapnia branda, a V_E , de ambos *P. iheringi* e ratos Wistar, aumentou aproximadamente duas vezes e a de *P. yonenagae* aumentou cerca de três vezes. Quando submetidos à hipercapnia severa, por 30 minutos, ambos os roedores silvestres apresentaram um aumento de aproximadamente quatro vezes na V_E , enquanto que os ratos Wistar mostraram uma elevação de seis vezes (Fig. 9).

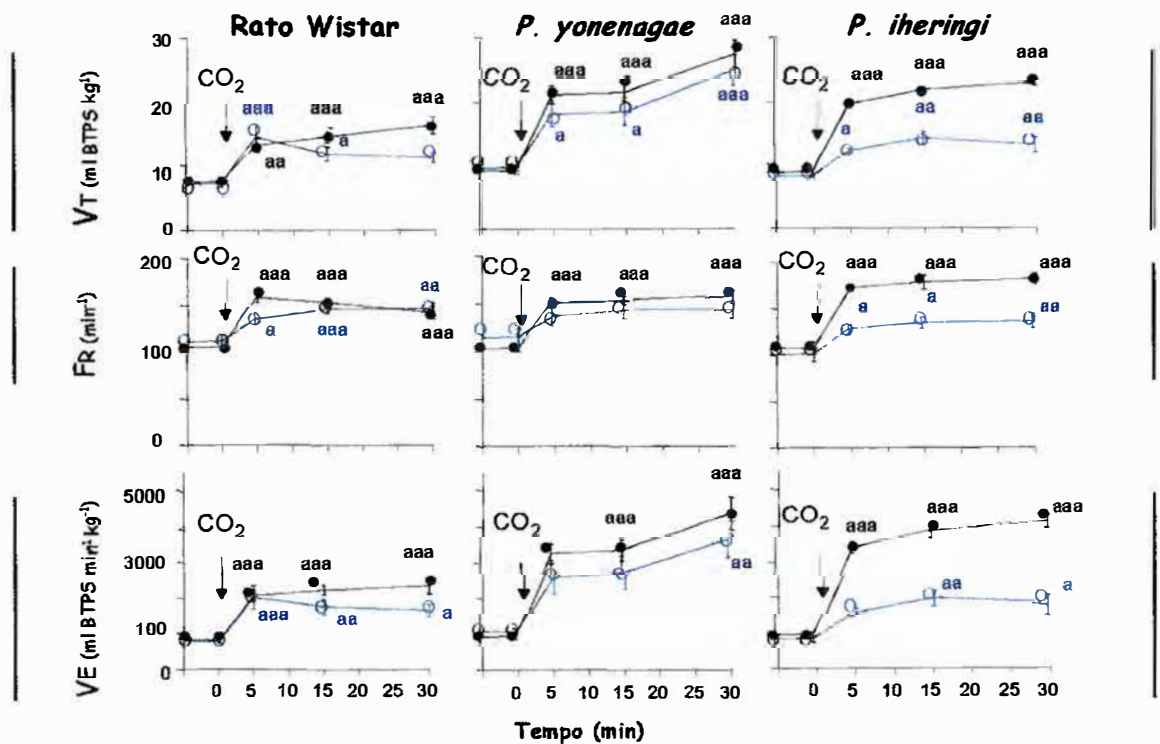


Fig. 9: Efeito de 5 (○) ou 10% de CO_2 (●) sobre o volume de ar corrente, frequência respiratória e ventilação pulmonar de ratos Wistar, *P. yonenagae* e *P. iheringi* (n= 10, 8 e 4, respectivamente). ^a(P < 0,05), ^{aa}(P < 0,01) e ^{aaa}(P < 0,001) indicam o efeito da hipercapnia comparados aos valores controle (Teste de Duncan).

A hiperventilação de *P. yonenagae*, induzida por hipercapnia branda, foi conseqüência de uma elevação significativa do V_T , diferentemente das respostas de *P. iheringi* e ratos Wistar, que resultaram de aumentos significativos tanto do V_T como da f_R . Porém, durante a exposição a 10% de CO_2 , a hiperventilação das três espécies foi devida ao aumento de ambos, V_T e f_R (Fig. 9).

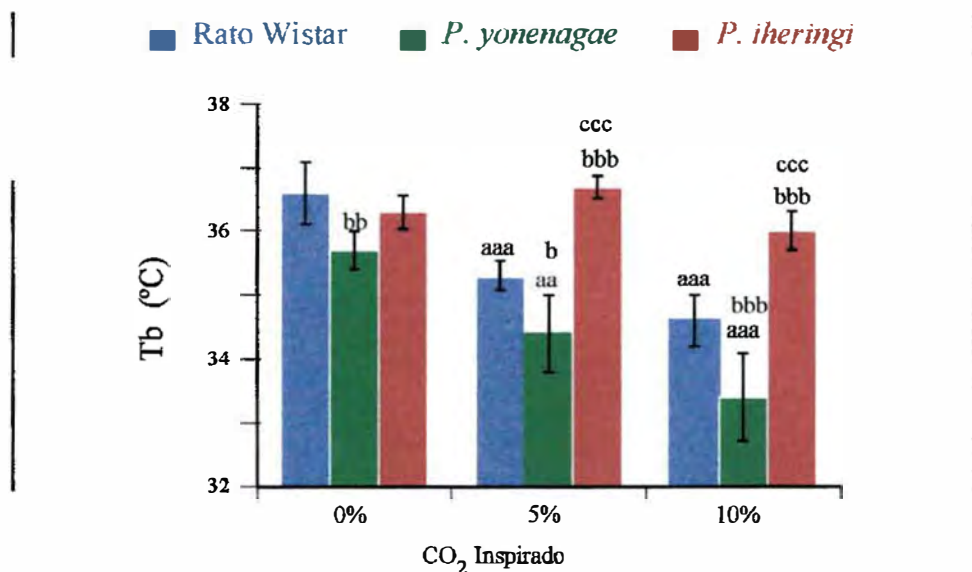


Fig. 10: Efeito da hipercapnia sobre a T_c de ratos Wistar, *P. yonenagae* e *P. iheringi* ($n=10, 8$ e 4 , respectivamente). ^{aa}($P < 0,01$) e ^{aaa}($P < 0,001$) indicam o efeito do CO_2 comparado aos valores controle (Teste de Duncan). ^b($P < 0,05$), ^{bb}($P < 0,01$) e ^{bbb}($P < 0,001$) indicam a diferença entre as três espécies, tomando os ratos Wistar como referência (Teste de Duncan). ^{ccc}($P < 0,001$) indica a diferença entre *P. yonenagae* e *P. iheringi* (Teste de Duncan).

Comparações interespecíficas revelaram diferenças significativas nas respostas de V_T e V_E à hipercapnia, mas não de f_R (Fig. 9). Aumentos de V_T e V_E foram maiores em *P. yonenagae* do que em *P. iheringi* e em ratos Wistar, aos 30 minutos de exposição à 5% de CO_2 . Porém, as alterações de

V_T e V_E em resposta a 10% de CO_2 foram similares nas duas espécies de ratos silvestres e foram menores nos ratos Wistar.

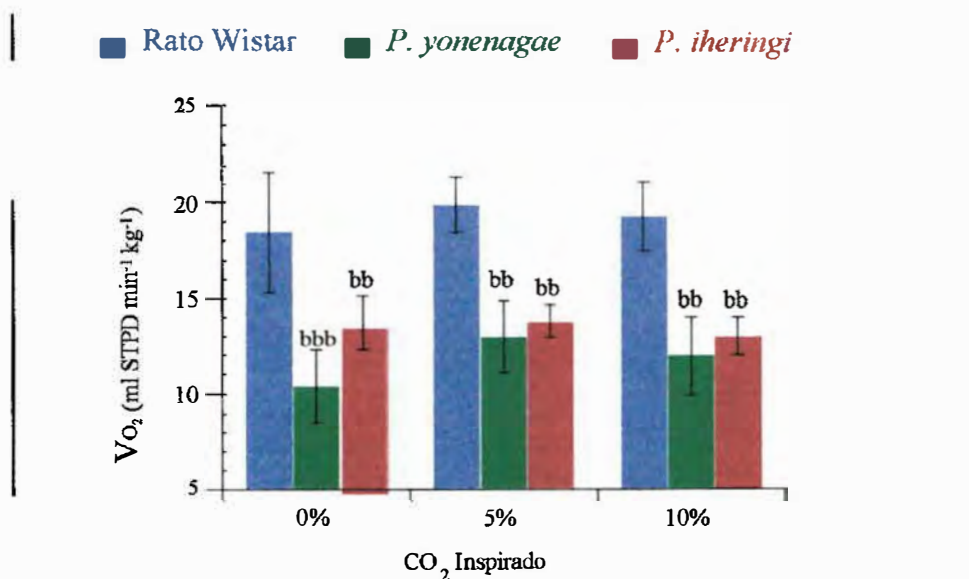


Fig. 11: Efeito da hipercapnia sobre o consumo de O_2 de ratos Wistar, *P. yonenagae* e *P. iheringi* ($n = 10, 8$ e 4 , respectivamente). ^{bb}($P < 0,01$) e ^{bbb}($P < 0,001$) indicam a diferença entre as três espécies, tomando os ratos Wistar como referência (Teste de Duncan). Hipercapnia não teve efeito significativo.

Comparações do efeito da hipercapnia com o ar e ainda entre as três espécies mostraram diferenças significativas sobre a T_c ($P < 0,05$; MANOVA de duas-vias). Durante a exposição ao ar atmosférico, a T_c de *P. yonenagae* apresentou-se significativamente menor ($P < 0,01$) do que a de ratos Wistar, mas semelhante a de *P. iheringi* (Fig. 10). A hipercapnia (5 ou 10% de CO_2) causou hipotermia em *P. yonenagae* e em ratos Wistar, mas não em *P. iheringe* (Fig. 10).

A figura 11 mostra as respostas de VO_2 à hipercapnia. Comparações interespecíficas revelaram diferenças significativas no VO_2 ($P < 0,05$; MANOVA de duas-vias). Não houve diferença significativa entre o consumo

de oxigênio basal de *P. yonenagae* ($10,5 \pm 1,9$ ml STPD $\text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$) e de *P. iheringi* ($13,7 \pm 1,4$ ml STPD $\text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$), mas ambos foram significativamente inferiores ao VO_2 dos ratos Wistar ($18,5 \pm 3,1$ ml STPD $\text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$). A hipercapnia não teve efeito sobre o VO_2 das três espécies de roedores.

Experimento utilizando o inibidor da via do NO

A figura 12 ilustra os registros de ventilação pulmonar de ratos Wistar obtidos 2 horas após a injeção i.p. de salina ou L-NNA, seguida de exposição à hipercapnia, por 30 minutos. Os animais tratados com o bloqueador da NOS, durante a inalação de ar atmosférico, apresentaram uma resposta ventilatória que consistiu em episódios de respirações rápidas separados por episódios de respirações lentas. Esta resposta mostrou-se dependente de dose, sendo que 25, 50 e 62,5% dos animais tratados com 10, 20 e 40 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ de L-NNA, respectivamente, desenvolveram o padrão alterado de V_E , enquanto que nenhum rato tratado com salina foi afetado. Com a exposição subsequente à mistura gasosa contendo 5% de CO_2 houve uma recuperação do padrão ventilatório normal e ambos os grupos, experimental e controle, passaram a apresentar registros semelhantes (Fig. 12).

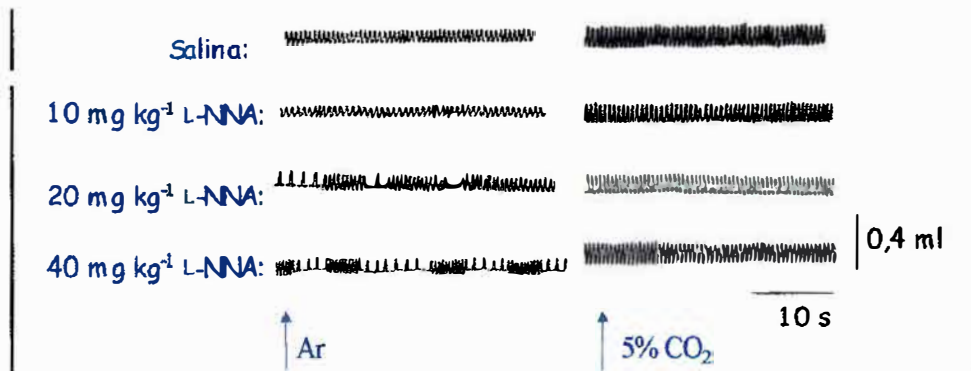


Fig. 12: Ilustração dos registros de ventilação pulmonar de rato Wistar após injeção i.p. de salina ou L-NNA (10, 20 e 40 mg.kg⁻¹), durante exposição ao ar atmosférico e a uma mistura gaseosa normóxica hipercápnica, contendo 5% de CO₂.

Com o uso de L-NNA, os ratos apresentaram tendência a redução da f_R , devido aos episódios com respirações lentas, porém, durante os períodos de respirações rápidas houve aumento tanto da f_R quanto do V_T em comparação aos animais controle. Como resultado, os animais tratados com o bloqueador da NOS, apresentaram tendência a aumento da V_E , de modo dependente de dose ($P > 0,05$; ANOVA de uma-via). Hipercapnia causou elevações similares na V_E ($P < 0,05$; teste t pareado) em ambos os grupos, tratado com salina ou L-NNA (Tab. 1).

Tab. 1: Efeito da injeção periférica de L-NNA (10, 20 and 40mg.kg⁻¹) sobre a VE, VT and fr de ratos Wistar durante hipercapnia.

		Salina	L-NNA		
			10 mg.kg ⁻¹	20 mg.kg ⁻¹	40 mg.kg ⁻¹
Pré-L-NNA	VT (ml.kg ⁻¹)	7.48±0.16	7.41±0.33	7.26±0.52	7.40±0.35
	fr (min ⁻¹)	106.00±4.25	105.00±4.91	112.08±6.69	107.50±5.90
	VE (ml.min ⁻¹ .kg ⁻¹)	790.46±31.64	772.30±28.49	796.34±43.55	795.50±30.40
L-NNA	VT (ml.kg ⁻¹)	7.17±0.47	8.45±0.95	8.41±0.56	9.35±0.41
	fr (min ⁻¹)	108.00±6.09	101.77±7.94	104.78±8.87	98.56±8.35
	VE (ml.min ⁻¹ .kg ⁻¹)	771.22±58.56	843.77±105.23	870.26±70.77	902.76±52.55
L-NNA e	VT (ml.kg ⁻¹)	11.30±0.75+	11.56±0.98+	10.64±0.46+	12.98±1.03+
	fr (min ⁻¹)	147.00±10.76+	127.03±4.10+	132.86±7.08+	136.41±6.94+
5% CO ₂	VE (ml.min ⁻¹ .kg ⁻¹)	1636.66±85.87+	1472.95±140.46+	1418.95±107.90+	1798.69±206.94+

Valores estão apresentados como média ± erro padrão (n=8, em cada grupo). * indica diferença significativa das médias antes e depois de 30 minutos de 5% de CO₂ (P < 0,05; teste t pareado).

A figura 13 mostra o efeito do bloqueador da NOS sobre a Tc de ratos submetidos ao ar ou à 5% de CO₂. Não ocorreu nenhuma mudança na Tc nos animais tratados com salina. Porém, a injeção de L-NNA na dose de 40 mg.kg⁻¹ causou redução significativa (P < 0,05; ANOVA de uma-via) na Tc de 0,74 ± 0,05°C, enquanto que as demais doses não tiveram efeito. As alterações de Tc causadas pelo bloqueio da NOS não foram afetados pela hipercapnia. Quando o CO₂ inspirado passou de 0 para 5%, uma queda significativa da Tc foi medida nos animais tratados com salina (P < 0,05; teste t pareado).

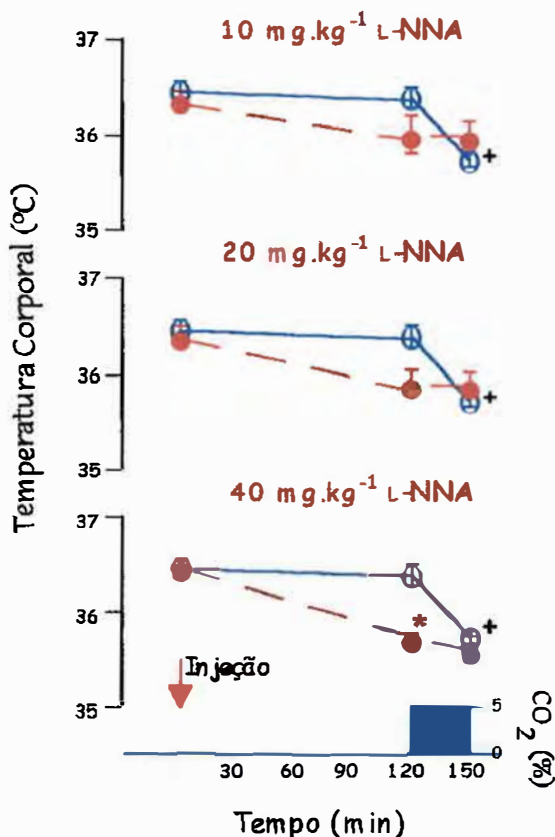


Fig. 13: Efeito da injeção periférica de L-NNA (○), nas doses de 10, 20 e 40 mg.kg⁻¹ de peso corporal, ou salina (●) sobre a temperatura corporal, durante hipercapnia (n=8, em cada grupo). * indica diferença significativa das médias antes e depois das injeções de L-NNA (P < 0,05; ANOVA de uma-via). * indica diferença significativa das médias antes e depois de 30 minutos de 5% de CO₂ (P < 0,05; teste t pareado).

O efeito da injeção i.p. de L-NNA sobre o consumo de O₂ antes e após hipercapnia está ilustrado na Figura 3. VO₂ foi reduzido, significativamente, 2 horas após a injeção de 40 mg.kg⁻¹ do bloqueador da NOS (P < 0,05; ANOVA de uma-via). Os ratos tratados com as doses menores de L-NNA apresentaram tendência a queda no VO₂, mas as diferenças não foram significativas. A hipercapnia não afetou o VO₂ nos animais que sofreram injeções de salina ou 10 e 20 mg.kg⁻¹ de L-NNA, porém, nos animais tratados com 40 mg.kg⁻¹ do inibidor da NOS, o VO₂ voltou aos valores basais durante exposição à 5% de CO₂.

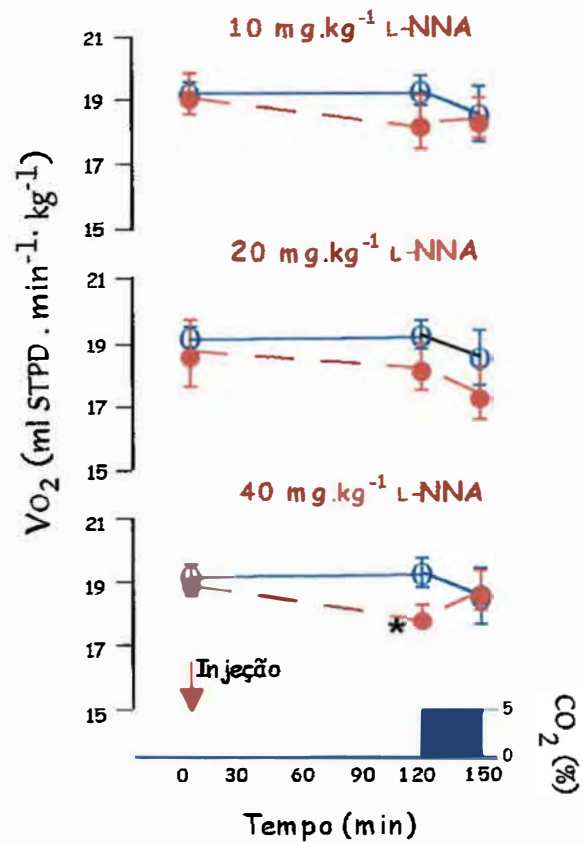


Fig. 14: Efeito da injeção periférica de L-NNA (○), nas doses de 10, 20 e 40 mg.kg⁻¹ de peso corporal, ou salina (●) sobre o consumo de O₂, durante hipercapnia (n=8, em cada grupo). * indica diferença significativa das médias antes e depois das injeções de L-NNA (P < 0,05; ANOVA de uma-via).

DISCUSSÃO

Apesar de alguns estudos terem previamente comparado as respostas respiratórias e metabólicas à hipercapnia entre mamíferos de toca e de superfície, eles utilizaram espécies pertencentes a famílias distintas (WALKER et al, 1985; BOGGS & BICHARD, 1989; MORTOLA, 1991). O presente trabalho fornece uma análise inédita e integrada dos efeitos da hipercapnia sobre a ventilação pulmonar, a temperatura corporal e o consumo de oxigênio de duas espécies de roedores não apenas da mesma família, mas também do mesmo gênero e subgênero e, ainda, que possuem modos de vida completamente diferentes.

Este estudo vem também demonstrar que as respostas de hiperventilação e hipotermia causadas por hipercapnia não compartilham o NO como um mediador comum, uma vez que nenhuma interação entre os efeitos de L-NNA sobre a hipercapnia induzindo hiperventilação e hipotermia foi encontrada. Porém, a via L-arginina-NO parece estar envolvida tanto na função respiratória normal como na termorregulação.

Os valores basais de ventilação pulmonar (MACHADO et al., 1992), de temperatura corporal (MORITA et al., 1993) e de consumo de O₂ (BARTLETT & TENNEY, 1970) medidos nos ratos Wistar, neste estudo, corroboram com outros dados da literatura. Da mesma forma, a hipercapnia causou hiperventilação (GAUTIER et al., 1993), hipotermia (GAUTIER et al., 1993; SACHDEVA & JENNINGS, 1994) e não afetou o consumo de O₂ (SAIKI & MORTOLA, 1996) dos ratos Wistar. Detalhes das comparações entre os dois roedores silvestres e da participação do NO no efeito da hipercapnia serão discutidos mais abaixo, na forma de itens.

Comparações entre as Espécies

1. Efeito da Hipercapnia sobre a Ventilação

A semelhança entre o valor da V_E basal de *P. yonenagae* comparado ao dos outros dois roedores não é consistente com a hipoventilação relativa de mamíferos semifossoriais, como o hamsters *Mesocricetus auratus* (MORTOLA, 1991) e os roedores *Thomomys bottae* e *T. umbrinus* (LECHNER, 1976). Em adição, a resposta ventilatória frente à hipercapnia dos dois roedores silvestres apresentou-se maior do que a dos ratos Wistar. GARLAND et al. (1994) também encontraram uma sensibilidade respiratória aumentada à hipóxia no esquilo *Spermophilus lateralis*, animal de toca, quando comparado a ratos. Porém, estudos têm mostrado que a resposta ventilatória ao CO_2 , de mamíferos semifossoriais, aparece reduzida (BOGGS et al., 1984). Por exemplo, a marmota semifossorial, *Marmota monax*, possui uma resposta ventilatória à hipercapnia menor do que a do porco-espinho *Erithizon dorsatum*, um roedor que não habita tocas (BOGGS & BICHARD, 1989). O dado de *P. yonenagae* obtido é, portanto, inesperado. Apesar disto, este roedor parece contar com alguma adaptação respiratória à hipercapnia, mesmo que pequena. Tal hipótese baseia-se em três observações: (1) sua hiperventilação causada pela hipercapnia não seguiu nem o padrão de outros mamíferos semifossoriais, nem aquela de *P. iheringi*; (2) o aumento significativo da sua V_E não ocorreu estantaneamente, mas apenas 30 e 15 minutos após exposição a 5 e 10% de CO_2 respectivamente, enquanto que em *P. iheringi*, o aumento ocorreu após 15 e 5 minutos de exposição a 5 e

10% de CO₂, respectivamente; e (3) sua resposta ventilatória induzida pela inalação de 5% de CO₂ diferiu daquela das outras duas espécies, pois consistiu num aumento significativo apenas do volume de ar corrente, mas não da frequência respiratória. Parece que, em animais que utilizam o diafragma para expandir seus pulmões, a hiperventilação resultante apenas do aumento do volume de ar corrente é menos dispendiosa do que da elevação da frequência respiratória; ou seja, o gasto energético para vencer as forças elásticas da caixa torácica é menor do que o necessário para vencer a resistência das vias aéreas superiores (WANG & WARBURTON, 1995). Em contraste, o efeito da hipercapnia mais severa sobre *P. yonenagae* foi o aumento significativo da V_E através da elevação de ambos, volume de ar corrente e frequência respiratória, como observado em *P. iheringi* e ratos Wistars, durante ambos os graus de hipercapnia. Estas diferenças podem indicar que a ocorrência de uma hipercapnia mais severa, dentro da toca, deve ser menos freqüente do que um valor aproximado a 5% de CO₂.

Mesmo que os indivíduos de *P. yonenagae* tenham experimentado PCO₂ alta previamente, na natureza, sua sobrevivência a esta condição de estresse da toca não parece depender totalmente da presença de adaptações fisiológicas. É provável que eles disponham, também, de mecanismos comportamentais. Não foi possível realizar medidas diretas da concentração de CO₂ no interior das tocas de *P. yonenagae*, mas é plausível acreditar que eles se encontrem, de fato, expostos a um certo grau de hipercapnia. Apesar do solo ser arenoso, facilitando a troca de gás toca-

superfície e de nenhum estudo de campo trazer evidências de que estes animais selam a entrada da toca, alguns fatos levam a crer que a hipercapnia provavelmente existe. Primeiro, mesmo em tocas de mamíferos desabitadas, a PCO_2 medida foi de $0,6 \pm 0,2\%$, que é similar à obtida do ar extraído diretamente do solo (0,4% de CO_2) a uma profundidade de 20 centímetros (KUHLEN, 1986). Neste sentido, além de construir tocas profundas (cerca de 1,5 m), *P. yonenagae* vive em grupos. Segundo, se o braço de entrada da toca for cerca de três vezes mais longo do que o corpo do animal, a concentração do gás não depende da abertura da toca estar ou não selada (KUHLEN, 1986); este parece ser o caso de *P. yonenagae*.

Neste trabalho, o menor aumento de V_E durante a hipercapnia foi encontrado nos ratos Wistar. Em outros estudos de comparação, que consideraram ratos albinos como uma espécie não habitante de tocas, verificou-se uma menor resposta ventilatória ao CO_2 em relação, por exemplo, a de humanos ou cães (ARIELI & AR, 1979). A semelhança da hiperventilação induzida por hipercapnia, entre espécies de ratos comuns em laboratórios e roedores semifossoriais, indica que o tipo selvagem que deu origem aos primeiros deve também ter sido semifossorial (BOGGS & BICHARD, 1989).

2. Efeito da Hipercapnia sobre a Temperatura Corporal

Possuir uma temperatura corporal basal relativamente baixa, compreende uma das adaptações fisiológicas a ambientes áridos. Mesmo vivendo numa região xérica e apresentando adaptações morfológicas

semelhantes às de alguns roedores de deserto (ROCHA, 1995), *P. yonenagae* tem uma Tc que não difere significativamente daquela de *P. iheringi*.

Queda de Tc frente à hipercapnia tem sido freqüentemente observada em várias espécies, entre as quais estão anfíbios (BRANCO & WOOD, 1994) e mamíferos (STUPFEL, 1974). Hipercapnia causou hipotermia somente em *P. yonenagae* e ratos Wistar. LAI et al. (1981) demonstraram que em ratos, mesmo quando o consumo de O₂ aumenta durante a hipercapnia, a Tc diminui de 1-1,5°C, um fenômeno que provavelmente reflete a perda de calor por hiperpnéia e vasodilatação cutânea, apresentando relação com a severidade e duração da hipercapnia.

A regulação da Tc se dá através de um balanço entre mecanismos que afetam a produção de calor e a perda de calor. A hipercapnia parece interferir com a termorregulação, principalmente, através do aumento da dissipação de calor, enquanto que o efeito do CO₂ sobre a produção de calor deve ser secundário, após a redução da Tc (SAIKI & MORTOLA, 1996). Em alguns estudos (KAMINSKI et al., 1985; JENNINGS & LAUPACIS, 1982) semelhantes ao presente, uma redução da Tc, durante hipercapnia aguda, foi observada sem estar associada a queda de consumo de O₂. Este fato parece estar relacionado com o trabalho aumentado da respiração, que tem sido considerado capaz de manter, ou até mesmo, aumentar o consumo de O₂ (cf. SACHDEVA & JENNINGS, 1994).

Contrariamente, *P. iheringi* não apresentou uma Tc abaixo do valor normocápnico, durante a hipercapnia. Pode ser que os mecanismos de

dissipação de calor desta espécie sejam menos sensíveis ao CO₂ e 30 minutos, de exposição à hipercapnia, represente tempo insuficiente para causar hipotermia. Este resultado também sugere que hipotermia induzida por hipercapnia não é simplesmente dependente da hiperventilação, mas sim um fenômeno complexo, que deve envolver até um controle central espécie-específico.

3. Efeito da Hipercapnia sobre o Consumo de Oxigênio

O consumo de O₂ basal de *P. yonenagae* medido não teve diferença significativa daquele de *P. iheringi*, mas ambos foram inferiores ao obtido para os ratos Wistar. Vem se tornando cada vez mais claro, que o peso corporal não é o único fator que determina o valor da taxa metabólica basal de mamíferos. De fato, *P. yonenagae* consiste no menor roedor, comparado a *P. iheringi* e ratos Wistar, mas não apresenta o maior valor de VO₂. Relações ecológicas, especialmente, hábitos alimentares (McNAB, 1969), micro- (McNAB, 1966) e macroclimas (McNAB & MORRISON, 1963), também influenciam a taxa metabólica basal. A semelhança no VO₂, obtido para as duas espécies de roedores silvestres, indica que também existe um componente filogenético afetando este parâmetro. O baixo valor de VO₂ encontrado para *P. iheringi* deve representar uma característica do gênero, que permitiu a invasão de *P. yonenagae* e, subseqüentemente, sua sobrevivência na caatinga semiárida, onde alimento e principalmente água são mais escassos. McNAB & MORRISON (1963) sugeriram e agora isto vem sendo demonstrado para uma variedade de roedores de deserto, que

valores proporcionalmente baixos de VO_2 e Tc representam mecanismos, de peso seletivo, impedindo a ocorrência de uma Tc letal, reduzindo a quantidade de água necessária para o esfriamento, através da evaporação e diminuindo a demanda metabólica.

A hipercapnia não afetou o consumo de O_2 das três espécies de roedores. Além de diferenças intrínsecas de cada espécie, muitos fatores devem contribuir para a variabilidade dos efeitos metabólicos da hipercapnia. Alguns pesquisadores têm observado um aumento, tanto no VO_2 , como na ventilação, o primeiro sendo atribuído ao custo energético da hiperventilação, por exemplo, em bois (HALES & FINDLAY, 1968) e pônies (KAMINSKI et al., 1985). SAIKI & MORTOLA (1996), por sua vez, detectaram apenas uma tendência, não significativa, de aumento no VO_2 com a hipercapnia (2 and 5 %), em ratos adultos, assim como foi observado nas três espécies de roedores do presente estudo. Finalmente, gatos apresentam uma grande queda de VO_2 quando expostos a 4% de CO_2 , à temperatura ambiente normal (SACHDEVA & JENNINGS, 1994).

4. Interação entre Ventilação Pulmonar, Temperatura Corporal e Consumo de Oxigênio frente à hipercapnia

Os dados obtidos de *P. yonenagae* e ratos Wistar revelaram uma relação negativa entre ventilação e Tc durante inalação de CO_2 . O aumento da primeira poderia ser o principal fator responsável pela elevação da perda de calor, que, por sua vez, provocou hipotermia em ambos os roedores.

Porém, o CO₂ também induziu hiperventilação em *P. iheringi*, sem que esta resposta refletisse numa hipotermia. Este estudo indica que, durante a hipercapnia, vários mecanismos, além daqueles associados com a hiperventilação, devem estar envolvidos na determinação da Tc e da taxa metabólica das três espécies de roedores. Contrariamente à hipóxia, o efeito do CO₂ mostrou-se independente de uma queda do consumo de O₂. Isto não significa exatamente que a hipercapnia não influencia o VO₂; na realidade, ela deve causar hipometabolismo, o qual pode permanecer mascarado pelo custo energético da hiperventilação.

P. yonenagae não apresentou um aumento menor de ventilação ou quedas maiores de Tc e de VO₂ durante a inalação de CO₂, quando comparado a *P. iheringi*. Em adição, os valores basais de V_E, Tc e VO₂ foram semelhantes nos dois roedores silvestres. Este dado sugere que *P. yonenagae* mantém muitas das características de suas espécies cogenéricas que vivem na superfície e em ambiente méxico. Alguma adaptação fisiológica parece existir, mas a invasão da caatinga semiárida por este roedor deve ter dependido principalmente do aparecimento de comportamentos específicos, como por exemplo sua habilidade de cavar, criando um microambiente não muito distinto do ambiente méxico. Da mesma forma, a espécie parece lidar com o estresse da hipercapnia existente nas tocas não somente através de adaptações fisiológicas, mas também por meio de padrões comportamentais.

A Via do Óxido Nítrico

1. Efeito de L-NNA e da Hipercapnia sobre a Ventilação

Os sítios de ação de L-NNA que podem afetar a função respiratória estão distribuídos por todo o corpo. Na periferia, o NO pode atuar como neurotransmissor inibitório no corpo carotídeo (GHUNG *et al.*, 1994) e alterar a pressão arterial, a qual pode afetar a ventilação provavelmente através de um efeito mediado pelos barorreceptores (cf. TEPPEMA *et al.*, 1997). O NO está associado à neurotransmissão glutamatérgica no sistema nervoso central (OGAWA *et al.*, 1995; TEPPEMA *et al.*, 1997) e a ativação de receptores de glutamato no NTS e no núcleo paragigantocelular é necessária para manter valores normais de ventilação e também para a ocorrência de uma resposta ventilatória normal ao CO₂ (NATTIE *et al.*, 1995). Tem sido demonstrado que o NO aumenta a excitabilidade e a taxa espontânea de disparos de neurônios do NTS (MA *et al.*, 1995) e, que L-NNA produz uma inibição do mecanismo pneumotáxico (LING *et al.*, 1992).

No presente estudo foi encontrado um padrão ventilatório atípico, durante a respiração de ar atmosférico, 2 horas após a injeção de L-NNA. Como o aparecimento desta resposta foi totalmente inesperado, algumas informações não puderam ser adquiridas com o protocolo experimental proposto, como a duração do padrão anormal de ventilação, a distribuição temporal da resposta dependente de dose e o que acontece durante o

retorno à normóxia, após a exposição ao CO₂. Outros estudos serão necessários.

Apesar de nenhuma diferença no comportamento dos animais ter sido observada entre os grupos controle e tratado, a possibilidade de um efeito tóxico da droga não deve ser completamente excluída. Porém, isto parece pouco provável, pois as doses de L-NNA administradas neste estudo e, mesmo doses maiores, têm sido regularmente utilizadas, sem nunca descrever ocorrência ou suspeita de intoxicação (TRAYSTMAN et al., 1995; TEPPEMA et al., 1997). O resultado deste trabalho parece então refletir o efeito específico da droga sobre o NO. Como a injeção do inibidor da NOS usada foi sistêmica, este padrão atípico de respiração dos ratos provavelmente reflete um balanço entre as alterações nos sistemas periférico e, principalmente, central, onde existe síntese e atuação do NO. Esta afirmação está baseada no fato de que L-NNA atravessa a barreira hematoencefálica (TEPPEMA et al., 1997) e de que o padrão ventilatório modificado, com episódios de respirações rápidas separados pelos de respirações lentas, está associado a doses crescentes de L-NNA, não ocorrendo após administração de salina (Fig. 12). Respiração episódica compreende o padrão de muitos vertebrados ectotérmicos, mas já foi demonstrada também em algumas espécies de mamíferos, em estados normalmente associados a depressão metabólica como, por exemplo, na hibernação e no sono (KINKEAD, 1997). A falta de NO produziu um padrão respiratório que lembra o episódico e possa, talvez, sustentar o argumento de que o controle da respiração consiste num sistema altamente conservado

entre os vertebrados. Além do mais, o presente estudo indica que o NO tem uma participação importante na função respiratória normal de ratos.

A hipercapnia induziu elevações similares da V_E nos grupos controle e experimental, resultantes de uma mesma estratégia, ou seja, aumentos simultâneos do V_T e da f_R . Parece que a presença de um fator adicional (CO_2), que estimula o centro respiratório, pode contrabalançar o efeito de L-NNA. GOZAL et al. (1996) também demonstraram que a inibição da NOS, usando L-NAME (N^G -nitro-L-arginina metil ester) e SMTC (S-metil-L-tiocitrulina) injetados intravenosamente (i.v.), não altera a resposta ventilatória global à hipercapnia. Porém, mudanças na estratégia ventilatória, consistindo de redução do V_T com paralelo aumento da f_R , foram observadas. Estes dados contraditórios indicam que variações nas respostas podem aparecer, quando diferentes bloqueadores da NOS e/ou diferentes vias de administração de drogas são utilizadas. A respeito dos mecanismos responsáveis pelos achados deste estudo, que permanecem pouco esclarecidos, o NO não parece ser importante para a quimiossensibilidade por si, mas deve atuar sobre neurônios relacionados com as funções respiratórias normais, especialmente aqueles que regulam tempo e amplitude de cada ciclo ventilatório (LING et al., 1992; MA et al., 1995).

2. Efeito de L-NNA e da Hipercapnia sobre a Temperatura Corporal

A via do NO participa de muitos sistemas que podem influenciar o controle da T_c, incluindo o tecido adiposo marrom (NAGASHIMA et al., 1994), um componente responsável pela produção de calor, a musculatura vascular lisa (TAYLOR & BISHOP, 1993), importante para a conservação de calor e algumas áreas do sistema nervoso central, especialmente do hipotálamo (cf. DE LUCA et al., 1995). Um dos principais grupos celulares, no hipotálamo, que contém NOS está localizado na área hipotalâmica lateral, sendo que nas regiões mais envolvidas na termorregulação, como a área pre-óptica medial e lateral a NOS está presente em fibras espessas e espalhadas, que chegam de células do núcleo da banda diagonal de Broca (VINCENT & KIMURA, 1992). Um fato interessante, do presente estudo, é que o tratamento com L-NNA causou uma redução da T_c de ratos Wistar (Fig. 2), apesar deste inibidor induzir vasoconstrição, tanto nas pequenas como nas grandes artérias (BAUDRY et al., 1993), que resulta em diminuição da perda de calor cutânea. Provavelmente, L-NNA leva à hipotermia por reduzir o fluxo sangüíneo para o tecido adiposo marrom (NAGASHIMA et al., 1994) e por promover uma queda da taxa de disparo das terminações do simpático que enervam o tecido adiposo interescapular (DE LUCA et al., 1995). O presente resultado indica que L-NNA, pelo menos quando injetado sistemicamente, causa uma depressão da produção de calor (NAGASHIMA et al., 1994) que se sobrepõe ao seu efeito de redução da perda de calor (TAYLOR & BISHOP, 1993).

Os mecanismos responsáveis pela indução de hipotermia como uma resposta adaptativa ainda não estão bem entendidos (WOOD, 1991). Os dados disponíveis na literatura sugerem a ocorrência de vários mediadores, incluindo o NO, que atuam em conjunto dentro do sistema nervoso central para promover o controle da Tc (STEINER et al., 1998). Recentemente, foi demonstrado que a via L-arginina-NO central é importante para a ocorrência da hipotermia induzida por hipóxia (BRANCO et al., 1997). O presente estudo reporta a participação do NO na hipotermia induzida por hipercapnia, em ratos, a qual tem sido menos estudada e parece mais complexa do que a causada por hipóxia, pois não se encontra associada a queda de taxa metabólica. Apenas a hiperventilação e a vasodilatação induzidas pelo CO₂ parecem não ser suficientes para explicar a resposta hipotérmica. Alguns trabalhos indicam que a redução de Tc provocada pela hipercapnia deve envolver um controle central. De fato, KUHNEN et al. (1987) obtiveram uma alteração no "set point" de Tc, para um valor inferior, durante exposição à hipercapnia, no hamster *Mesocricetus auratus*.

Este estudo confirma que a hipotermia induzida por hipercapnia deve contar com outros mecanismos além daqueles causados diretamente pelo CO₂, hiperventilação e vasodilatação, pois a queda de Tc obtida após bloqueio da NOS não foi afetada pela hipercapnia. O efeito da inalação de CO₂ sobre a ventilação pulmonar foi mantido após tratamento com L-NNA, porém, não houve redução adicional de Tc, sugerindo que a hipercapnia induzindo hipotermia possa ter um componente central que envolva a via do NO.

3. Efeito de L-LNNA e da Hipercapnia sobre o Consumo de Oxigênio

Existem várias evidências de que inibidores da NOS produzem hipotermia (SCAMMELL et al., 1996; BANSINATH et al., 1997; BRANCO et al., 1997). Tal redução da Tc deve ser acompanhada por uma queda no VO_2 , principalmente se a resposta termogênica estiver bloqueada (WOOD, 1991). No presente estudo, uma queda no VO_2 foi observada 2 horas após injeção da dose maior do inibidor da NOS.

Uma revisão da literatura revela efeitos contraditórios da hipercapnia sobre o VO_2 . Diferentes custos energéticos da hiperventilação, conforme a espécie, complicam a interpretação destes dados. Considerando tal fato, a hipercapnia pode ter reduzido a taxa metabólica, porém a detecção desta queda não possível, por causa da resposta hiperventilatória. A exposição ao CO_2 não afetou o VO_2 de ratos Wistar, após administração de salina ou L-NNA, nas duas doses inferiores. Porém, a queda do VO_2 , do subgrupo tratado com a dose mais alta de L-NNA, foi recuperada durante a exposição ao CO_2 , provavelmente devido à resposta hiperventilatória.

4. Efeito de L-NNA sobre a Interação entre Ventilação, Temperatura Corporal e Consumo de Oxigênio durante Hiperapnia

Este estudo demonstra que as respostas de hiperventilação e hipotermia causadas por hiperapnia não compartilham o NO como um

mediador comum, pois nenhuma interação entre os efeitos de L-NNA sobre a hipercapnia induzindo hiperventilação e hipotermia foi encontrada. A inibição da NOS não alterou a resposta ventilatória provocada por hipercapnia, mesmo tendo causado uma queda na Tc. Porém, a via L-arginina-NO participa da função respiratória normal e da termorregulação.

Vários estudos têm sido conduzidos para determinar se mudanças na Tc afetam a resposta ventilatória a inalação de concentrações variadas de CO₂, mas em endotérmicos a metodologia parece sempre representar um problema, produzindo resultados divergentes. OLIEVIER et al. (1982), usando gatos anestesiados com Tc variando de 34 a 40°C, concluíram que a Tc não é um fator influente sobre as resposta desencadeadas pelo CO₂. Porém, anestésicos impedem o mecanismo homeostático de regulação da Tc (MASKREY, 1990) e a exposição ao frio afeta os mecanismos de produção de calor e de perda de calor, sem estabelecer um valor inferior do “set point” de Tc. MASKREY (1990) demonstrou que o efeito do esfriamento sobre a resposta à inalação de ar enriquecido com CO₂ consiste numa elevação da ventilação, em ratos conscientes. Ele utilizou um trocador de calor abdominal para provocar hipotermia, que, novamente não afeta o “set point” para Tc. Animais ectotérmicos parecem ser um modelo experimental mais adequado para o estudo do efeito da Tc sobre a resposta ventilatória à hipercapnia, mas os dados da literatura também revelam resultados contraditórios. No sapo *Bufo paracnemis*, queda na Tc leva a uma redução da resposta ventilatória à hipercapnia (BRANCO et al., 1993). Em contraste, JACKSON et al. (1974) mostrou que a ventilação de tartarugas *Pseudemys* apresenta uma

sensibilidade similar, durante exposição ao CO₂, nas temperaturas de 10, 20 e 30°C. O presente estudo, conduzido em ratos Wistar conscientes e à temperatura ambiente, revela que uma modesta, mas significativa, queda de T_c, causada pela inibição da NOS, que parece interferir com o "set point" para a T_c, não tem efeito sobre a resposta ventilatória à hipercapnia.

CONCLUSÃO

Pela primeira vez, compararam-se as respostas respiratórias e metabólicas à hipercapnia entre mamíferos de toca e de superfície pertencentes à mesma família, gênero e subgênero.

P. yonenagae, o roedor da caatinga, parece contar com poucas adaptações fisiológicas tanto à hipercapnia da toca como ao ambiente semiárido, uma vez que suas respostas, em geral, foram similares às de *P. iheringi*, o roedor da mata. A mais importante adaptação encontrada foi o desenvolvimento de hipotermia, durante inalação de ar enriquecido com CO₂.

A importância de utilizar, em estudos deste tipo, animais experimentais filogeneticamente aparentados consiste em verificar, até que ponto, a sobrevivência num ambiente hostil é consequência de modificações, estruturais e funcionais, recém adquiridas ou de caracteres que já existiam no grupo de origem. Neste sentido, as semelhanças observadas entre as duas espécies devem representar características do gênero, ou pelo menos do subgênero, que permitiram a invasão de *P. yonenagae* na caatinga. O aparecimento de comportamentos específicos neste animal, como a habilidade de cavar, deve ter sido também crucial.

Este estudo vai de encontro à idéia de que as espécies não são agentes passivos frente a um meio externo muitas vezes rigoroso, mas sim participantes ativos, permitindo uma troca entre organismo e ambiente.

Sobre a integração dos diferentes mecanismos fisiológicos desencadeados pela exposição ao CO₂, este estudo também demonstra que o NO não age como mediador comum, pois nenhuma interação entre os

efeitos de L-NNA sobre a hipercapnia induzindo hiperventilação e hipotermia foi encontrada. Por outro lado, a inibição da via L-arginina-NO parece afetar, mesmo que de maneira independente, a função respiratória normal e a termorregulação.

Após falta de NO, induzida pela administração de um bloqueador farmacológico da NOS, os ratos apresentaram um padrão respiratório anormal, similar à respiração episódica de ectotérmicos e de certos mamíferos sob condições de hipometabolismo. Os mesmos ratos também revelaram redução de consumo de O₂. Provavelmente, os animais endotérmicos e ectotérmicos compartilhem as mesmas características básicas do controle da ventilação.

O bloqueio sistêmico da NOS causou hipotermia e a hipercapnia subsequente não teve mais efeito sobre esta queda de T_c, sugerindo um possível envolvimento da via do NO na hipotermia induzida por hipercapnia. Tal resultado sustenta o argumento de que o NO possa ser o neuromodulador da via final comum de ativação da hipotermia, enfatizando-a como uma resposta adaptativa frente a vários estímulos estressantes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARIELI, R.; AR A. Ventilation of a fossorial mammal (*Spalax ehrenbergi*) in hypoxic and hypercapnic condition. **J. Appl. Physiol.**, v.47, p.1011-1017, 1979.
- BANSINATH, M.; NIVARTHI, R.N.; TURNDORF, H. Role of nitric oxide-mediated signal transduction in hypothermia induced by intravenous anesthetics. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v.813, p.818-826, 1997.
- BARTLETT JR., D.; TENNEY, S.M. Control of breathing in experimental anemia. **Respir. Physiol.**, v.10, p.384-395, 1970.
- BAUDRY, N.; VICAUT, E. Role of nitric oxide in effects of tumor necrosis factor- α on microcirculation in rat. **J. Appl. Physiol.**, v.75, p.2392-2399, 1993.
- BERNARD, C. **Introduction to the study of Experimental Medicine**. Ed. Dover Press, New York, p.117, 1957.
- BERTMAN, L.; KEYKHAH, M.M.; HARP, J.R. Cerebral protective effect of low grade hypothermia (Abstract). **Anesthesiology**, v.53, p.S240, 1980.
- BOGGS, D.F.; KILGORE, D.L.; BICHARD, G.F. Respiratory physiology of burrowing mammals and birds. **Comp. Biochem. Physiol.**, v.77^A, p.1-7, 1984.
- BOGGS, D.F.; BICHARD, G.F. Cardiorespiratory responses of the woodchuck and porcopine to CO₂ and hypoxia. **J. Comp. Physiol. B**, v.159, p.641-648, 1989.
- BRANCO, L.G.S. Interactions between body temperature regulation and blood acid-base status in anuran amphibians. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v.28, p.1191-1196, 1995.

- BRANCO, L.G.S. Effects of 2-deoxy-D-glucose and insulin on plasma glucose and behavioral thermoregulation of toads. **Am. J. Physiol.**, v.39, p.R1-R5, 1997.
- BRANCO, L.G.S.; GLASS, M.L.; WANG, T.; HOFFMANN, A. Temperature and central chemoreceptor drive to ventilation in toad (*Bufo paracnemis*). **Respir. Physiol.**, v.93, p.337-346, 1993.
- BRANCO, L.G.S.; WOOD, S.C. Role of central chemoreceptors in behavioral thermoregulation of the toad *Bufo marinus*. **Am. J. Physiol.**, v.266, p.R1483-R1487, 1994.
- BRANCO, L.G.S.; GLASS, M.L. Ventilatory response to carboxyhaemoglobinaemia and hypoxia in *Bufo paracnemis*. **J. Exp. Biol.**, v.198, p.1417-1421, 1995.
- BRANCO, L.G.S.; GLASS, M.L.; HOFFMANN, A. Central chemoreceptor drive to breathing in unanesthetized toads, *Bufo paracnemis*. **Respir. Physiol.**, v.87, p.195-204, 1991.
- BRANCO, L.G.S.; CÁRNIO, E.C.; BARROS, R.C.H. Role of nitric oxide pathway in hypoxia-induced hypothermia of rats. **Am. J. Physiol.**, v.273, p.R967-R971, 1997.
- CHUNGH, D.K.; KATAYAMA, M.; MOKASHI, A.; BEBOUT, D.E.; RAY, D.K.; LAHIRI, S. Nitric oxide-related inhibition of carotid chemosensory nerve activity in the cat. **Respir. Physiol.**, v.97, p.147-156, 1994.
- CLARK, D.J.; FEWELL, J.E. Body-core temperature decreases during hypoxic hypoxia in Long-Evans and Brattleboro rats. **Can. J. Physiol. Pharmacol.**, v.72, p.1528-1531, 1994.

- COMROE JUNIOR, J.H. **Fisiologia Respiratória**. 2.ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1977.
- COOPER, K.E.; KASTING, N.W.; LEDERIS, K.; VEALE, W.L. Evidence supporting the role of endogenous vasopressin in natural suppression of fever in the sleep. **J. Physiol. (London)**, v.295, p.33-45, 1979.
- DE LUCA, B.; MONDA, M.; SULLO, A. Changes in eating behavior and thermoregulation activity following inhibition of nitric oxide formation. **Am. J. Physiol.**, v.268, p.R1533-R1538, 1995.
- DUN, N.J.; DUN, S.L.; FÖRSTERMANN, U. Nitric oxide synthase immunoreactivity in rat pontine medullary neurons. **Neuroscience**, v.59(2), p.429-445, 1994.
- EMMONS, L.H. Ecology of *Proechimys* (Rodentia, Echimyidae) in Southeastern Peru. **Trop. Ecol.**, v.23(2), p.280-290, 1982.
- ENDERS, R.K. Mammalian life histories from Barro Colorado Island, Panama. **Bull. Mus. Comp. Zool.**, v.78, p.383-502, 1935.
- FARKAS, M.; DONHOFFER, S. The effect of hypercapnia on heat-production and body temperature in the new-born guinea pig. **Act. Physiol. Hung.**, v.46, p.201-217, 1975.
- FERREIRA, S.H.; DUARTE, I.D.; LORENZETTI, B.B. The molecular mechanism of action of peripheral morphine analgesia: stimulation of cGMP system via nitric oxide release. **Eur. J. Pharmacol.**, v.201, p.121-122, 1991.
- FRAPPELL, P.; WESTWOOD, K.; MASKREY, M. Ventilatory and metabolic responses to hypoxia during moderate hypothermia in anesthetized rats. **J. Appl. Physiol.**, v.79, p.256-260, 1995.

- FURCHGOTT, R.F.; ZAWADZKI, J.V. The obligatory role of the endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. **Nature**, v.288, p.373-373, 1980.
- GARLAND, R.J.; KINKEAD, R.; MILSOM, W.K. The ventilatory responses of rodents to changes in arterial oxygen content. **Respir. Physiol.**, v.96, p.199-211, 1994.
- GAUTIER, H.; BONORA, M.; TRINH, H.C. Ventilatory and metabolic response to cold and CO₂ in intact and carotid body-denervated awake rats. **J. Appl. Physiol.**, v.75, p.2570-2579, 1993.
- GORDON, C.J.; MOHLER, F.S.; WATKINSON, W.P.; REZVANI, A.H. Temperature regulation in laboratory mammals following acute toxic insult. **Toxicology**, v.53, p.161-178, 1988.
- GORDON, C.J.; FOGELSON, L. Comparative effects of hypoxia on behavioral thermoregulation in rats, hamsters, and mice. **Am. J. Physiol.**, v.260, p.R120-R125, 1991.
- GOURINE, A.V. Pharmacological evidence that nitric oxide can act as an endogenous antipyretic factor in endotoxin-induced fever in rabbits. **Gen. Pharmacol.**, v.26, p.835-841, 1995.
- GOZAL, D.; TORRES, J.E.; GOZAL, Y.M.; LITWIN, S.M. Effect of nitric oxide synthase inhibition on cardiorespiratory responses in the conscious rat. **J. Appl. Physiol.**, v.81(5), p.2068-2077, 1996.
- GUILLOTIN, M. Rythmes d'activité et régimes alimentaires de *Proechimys cuvieri* et d'*Oryzomys capito velutinus* (Rodentia) en forêt guyanaise. **Terre Vie**, v.36(3), p.337-371, 1982.

- HALES, J.R.; FINDLAY, J.D. The oxygen cost of thermally-induced and CO₂-induced hyperventilation in the ox. **Respir. Physiol.**, v.4, p.353-362, 1968.
- JACKSON, D.C.; PALMER, S.E.; MEADOW, W.L. The effects of temperature and carbon dioxide breathing on ventilation and acid-base status of turtles. **Respir. Physiol.**, v.20, p.131-146, 1974.
- JENNINGS, D.B.; LAUPACIS, A. The effect of body warming on ventilatory response to CO₂ in the awake dog. **Respir. Physiol.**, v.49, p.355-369, 1982.
- KAMINSKI, R.P.; FORSTER, H.V.; BIGGARD, G.E.; PAN, L.G.; DORSEY, S.M.; BARBER, B.J. Effects of altered ambient temperature on metabolic rate during CO₂ inhalation. **J. Appl. Physiol.**, v.58, p.1592-1596, 1985.
- KINKEAD, R. Episodic breathing in frogs: converging hypotheses on neural control of respiration in air breathing vertebrates. **Amer. Zool.**, v.37 p.31-40, 1997.
- KLUGER, M. J. Fever and Survival. **Science**, v.188, p.166-168, 1975.
- KROGH, A. The quantitative relation between temperature and standard metabolism in animals. **Int. Z. Phys. Chem. Biol.**, v.1, p.491-508. 1914.
- KUHNEN, G. O₂ and CO₂ concentrations in burrows of euthermic and hibernating golden hamsters. **Comp. Biochem. Physiol.**, v.84A, p.517-522, 1986.
- KUHNEN, G.; WLOCH, B.; WÜNNENBERG, W. Effects of acute hypoxia and/or hypercapnia on body temperatures and cold induced thermogenesis in the golden hamster. **J. Therm. Biol.**, v.12(2), p.103-107, 1987.

- LAY, Y.L.; LAMM, J.E.; HILDERBRANDT, J. Ventilation during prolonged hypercapnia in the rat. **J. Appl. Physiol.**, v.51, p.78-83, 1981.
- LECHNER, A.J. Respiratory adaptations in burrowing pocket gophers from sea level and high altitude. **J. Appl. Physiol.**, v.41, p.168-173, 1976.
- LEVITZKY, M.G. **Pulmonary Physiology**, 4.ed., Ed. McGraw-Hill, Singapore, 1995.
- LING, L.; KARIUS, D.R.; FISCUS, R.R.; SPECK, D.F. Endogenous nitric oxide required for an integrative respiratory function in the cat brain. **J. Neurophysiol.**, V.68(5), p.1910-1912, 1992.
- MA, S.; ABBOUD, F.M.; FELDER, R.B. Effects of L-arginine-derived nitric oxide synthesis on neuronal activity in nucleus tractus solitarius. **Am. J. Physiol.**, v.268, p.R487-R491, 1995.
- MACHADO, B.H.; MAUAD, H.; GLASS, M.L. Transient changes in blood pressure during spontaneous deep breaths in rats with sinoaortic deafferentation. **J. Appl. Physiol.**, v.72, p.920-924, 1992.
- MALAN, A. Ventilation measured by body plethysmography in hibernating mammals and in poikilotherms. **Respir. Physiol.**, v.17, p.32-44, 1973.
- MASKREY, M. Body temperature effects on hypoxic and hypercapnic responses in awake rats. **Am. J. Physiol.**, v.259, p.R492-R498, 1990.
- McNAB, B.K. The metabolism of fossorial rodent: A study of convergence. **Ecology**, v.47, p.712-733, 1966.
- McNAB, B.K. The economics of temperature regulation in neotropical bats. **Comp. Biochem. Physiol.**, v.31, p.227-268, 1969.

- McNAB, B.K.; MORRISON, P.R. Body temperature and metabolism in subspecies of *Peromyscus* from arid and mesic environments. **Ecol. Monographs.**, v.33, p.63-82, 1963.
- MILLS, P.C.; MARLIN, D.J.; SCOTT, C.M.; SMITH, N.C. Nitric oxide and thermoregulation during exercise in the horse. **J. Appl. Physiol.**, v.82(4), p.1035-1039, 1997.
- MONCADA, S.; PALMER, R.M.J.; HIGGS, E.A. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. **Pharmacol. Rev.**, v.43, p.109-142, 1991.
- MORITA, T.; KONAKA, K.; KAWASAKI, Y.; KAWAI, F.; KANAMORI, M.; MITSUDA, H. Effects of moderate hypercapnia on hypothermia induced by cold He-O₂ in rats. **Comp. Biochem. Physiol.**, v.104A, p.215-218, 1993.
- MORTOLA, J.P. Hamsters versus rats: ventilatory responses in adults and newborns. **Respir. Physiol.**, v.85, p.305-317, 1991.
- NAGASHIMA, T.; OHINATA, H.; KUROSHIMA, A. Involvement of nitric oxide in noradrenaline-induced increase in blood-flow through brown adipose tissue. **Life Sci.**, v.54, p.17-25, 1994.
- NATTIE, E.E.; LI, A.H. Rat retrotrapezoid nucleus iono- and metabotropic glutamate receptors and the control of breathing. **J. Appl. Physiol.**, v.78, p.153-163, 1995.
- OGAWA, H.; MIZYSAWA, A.; KIKUCHI, Y.; HIDA, W.; MIKI, H.; SHIRATO, K. Nitric oxide as retrograde messenger in the nucleus tractus solitarii of rats during hypoxia. **J. Physiol. (London)**, v.486(2), p.494-504, 1995.

- OLIEVIER, C.N.; BERKENBOSCH, A.; DE GOEDE, J. Effect of temperature on ventilatory response curve to carbon dioxide in anesthetized cats. **Respir. Physiol.**, v.47, p.365-377, 1982.
- PAPPENHEIMER, J. R.; FENCL, V.; HEISEY, S.R.; HELD, D. Role of cerebral fluids in control of respiration as studied in unanesthetized goats. **Am. J. Physiol.**, v.208, p.R436-R450, 1965.
- PEPELKO, W.; DIXON, G.A. Elimination of cold induced nonshivering thermogenesis by hypercapnia. **Am. J. Physiol.**, v.227, p.R264-R267, 1974.
- RIVIER, C.; SHEN, G. In the rat, endogenous nitric oxide modulates the response of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis to interleukin-1 β , vasopressin, and oxytocin. **J. Neurophysiol.**, v.14, p.1985-1993, 1994.
- PÖRTNER, H.O.; BRANCO, L.G.S.; MALVIN, G.M.; WOOD, S.C. A new function of lactate in the toad *Bufo marinus*. **J. Appl. Physiol.**, v.76, p.2405-2410, 1994.
- ROCHA, P.L.B. *Proechimys yonenagae*, a new species of spiny rat (Rodentia: Echimyidae) from a fossil sand dunes in the Brazilian Caatinga. **Mammalia**, v.59 (4), p.537-549, 1995.
- SACHDEVA, U.; JENNINGS, D.B. Effects of hypercapnia on metabolism, temperature, and ventilation during heat and fever. **J. Appl. Physiol.**, v.76, p.1285-1293, 1994.
- SAIKI, C.; MORTOLA, J.P. Effect of CO₂ on the metabolic and ventilatory responses to ambient temperature in conscious adult and newborn rats. **J. Physiol. (London)**, v.491.1, p. 261-269, 1996.

- SHAMS, H. Differential effects of CO₂ and H⁺ as central stimuli of respiration in the cat. **J. Appl. Physiol.**, v.58, p.357-364, 1985.
- SNYDER, S.H.; BREDT, D.S. Biological roles of nitric oxide. **Sci. Am.**, v.266, p.68-77, 1992.
- STEINER, A.A.; CARNIO, E.C.; ANTUNES-RODRIGUES, J.; BRANCO, L.G.S. Role of nitric oxide in systemic vasopressin-induced hypothermia. **Am. J. Physiol.**, *submetido*, 1998.
- STUPFEL, M. Carbon dioxide and temperature regulation of homeothermic mammals. In: **Carbon Dioxide and Metabolic Regulations**. Springer-Verlag, New York; G. Nahas, K.E. Schaefer, p.163-186, 1974.
- TAMAKI, Y.; NAKAYAMA, T. Effects of air constituents on thermosensitivities of preoptic neurons: hypoxia versus hypercapnia. **Pflügers Arch.**, v.409, p.1-6, 1987.
- TAYLOR, W.F.; BISHOP, V.S. A role for nitric oxide in active thermoregulatory vasodilation. **Am. J. Physiol.**, v.264, p.H1355-H1359, 1993.
- TEPPEMA, L.; BERKENBOSCH, A.; OLIEVIER, C. Effect of N^ω-nitro-L-arginine on ventilatory response to hypercapnia in anesthetized cats. **J. Appl. Physiol.**, v.82(1), p.292-297, 1997.
- TRAYSTMAN, R.J.; MOORE, L.E.; HELFAER, M.A.; DAVIS, S.; BANASIAK, K.; WILLIAMS, M.; HURN P.D. Nitro-L-arginine analogues: dose- and time-related nitric oxide synthase inhibition in brain. **Stroke**, v.26, p.864-869, 1995.
- VINCENT, S.R.; KIMURA, H. Histochemical mapping of nitric oxide synthase in the rat brain, **Neuroscience**, v.46, p.755-784, 1992.

- WALKER, B.R.; ADAMS, E.M.; VOELKEL, N.F. Ventilatory responses of hamsters and rats to hypoxia and hypercapnia. **J. Appl. Physiol.**, v.59, p.1955-1960, 1985.
- WANG, T.; WARBURTON, S.J. Breathing pattern and cost of ventilation in the American alligator. **Respir. Physiol.**, v.102, p.29-37, 1995.
- WANG, X.L.; LEE, T.F.; WANG, L.C.H. Do adenosine antagonists improve cold tolerance by reducing hypothalamic adenosine activity in rats? **Brain Res. Bull.**, v.24, p.389-391, 1990.
- WEST, N.H. **Respiratory physiology: The essentials**. 3ed. Baltimore, London, Sydney, Williams & Wilkins, 1985.
- WILLIAMS, D.D.; RAUSCH, R.L. Seasonal carbon dioxide and oxygen concentrations in the dens of hibernating mammals (Sciuridae). **Comp. Biochem. Physiol.**, v.44A, p.1227-1235, 1973.
- WOOD, S.C. Interactions between hypoxia and hypothermia. **Ann. Rev. Physiol.**, v.53, p.71-85, 1991.
- WOOD, S.C. Oxygen as a modulator of body temperature. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v.28, p.1249-1256, 1995.

SUMMARY

The recently described burrow-dwelling *Proechimys yonenagae* from the Brazilian semiarid caatinga was compared to *P. iheringi* from the Brazilian rain forest of Mata Atlantica in terms of interactions between body temperature (T_b), ventilation (V_E) and oxygen consumption (VO_2) during hypercapnia (5 or 10% CO_2). Wistar rats were also used to assess the participation of the nitric oxide (NO) pathway in hypercapnia-induced hypothermia and hyperventilation. V_E was measured by plethysmography, T_b by inserting a probe into the colon, and VO_2 by a close-flow system. In the Wistar rats, measurements were performed before and after NO synthase bocker N^m -nitro-L-arginine (L-NNA) injection (intraperitoneally) and after 5% CO_2 inhalation. During air breathing, V_E did not differ between the three rodents, Wistar T_b was elevated compared to *P. yonenagae*, and the VO_2 values of *P. yonenagae* and *P. iheringi* were significantly lower than those of Wistar rats. Hypercapnia caused hyperventilation in the three species, hypothermia in *P. yonenage* and Wistar rats, but no change in VO_2 was observed in any of the rodents. A significant drop in body temperature was measured after L-NNA ($40 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), accompanied by a reduction in VO_2 . Hypercapnia had no effect on L-NNA-induced hypothermia and the ventilatory response to hypercapnia was not changed by L-NNA. Comparisons of the two spiny rat species suggest little adaptation of *P. yonenagae* to hypercapnia in burrows. The two responses elicited by hypercapnia, *i.e.*, hyperventilation and hypothermia, do not share NO as a

common mediator. However, the L-arginine-NO pathway participates, although in an unrelated way, in respiratory function and thermoregulation.