

UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
NÚCLEO DE PESQUISAS EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**Exercício Físico Melhora a Aptidão Aeróbica e Induz
Neuroplasticidade no Bulbo Ventrolateral Rostral de Ratos
com Hipertensão Renovascular 2R1C**

**Rodrigo Pereira da Silva
Ouro Preto - MG
2014**

Rodrigo Pereira da Silva

Exercício Físico Melhora a Aptidão Aeróbica e Induz Neuroplasticidade no Bulbo Ventrolateral Rostral de Ratos com Hipertensão Renovascular 2R1C

Orientadora: Andréia Carvalho Alzamora

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação de Ciências Biológicas do Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Ouro Preto, para obtenção do Título de Doutor em Ciências Biológicas.

S381e Silva, Rodrigo Pereira da.
Exercício físico melhora a aptidão aeróbica e induz neuroplasticidade no bulbo ventrolateral rostral de ratos com hipertensão renovascular 2R1C [manuscrito] / Rodrigo Pereira da Silva. - 2014.
93f.: il.: color, graf.; tabs.

Orientador: Prof. Dr^a. Andréia Carvalho Alzamora.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Ouro Preto. Instituto de Ciências Exatas e Biológicas. Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas.
Área de Concentração: Bioquímica Metabólica e Fisiológica.

1. Aptidão física. 2. Exercícios físicos. 3. Hipertensão renovascular. I. Alzamora, Andréia Carvalho. II. Universidade Federal de Ouro Preto. III. Título.

CDU: 796:616.12

Catálogo: www.sisbin.ufop.br

Ata da Banca Examinadora de Defesa de Tese Intitulada:

"Avaliação da aptidão aeróbia e dos efeitos cardiovasculares induzidos pela Ang-(1-7) e Ang II no bulbo ventrolateral rostral de ratos com hipertensão renovascular submetidos ao treinamento aeróbio"

Aos treze dias do mês de fevereiro de 2014, às 09:00h, no Auditório do Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Ouro Preto reuniu-se a Comissão Examinadora da Tese do aluno **Rodrigo Pereira da Silva**. A defesa da tese iniciou-se pela apresentação oral feita pelo candidato e, em seguida, arguição pelos membros da banca. Ao final, os membros da banca examinadora reuniram-se e decidiram por A P R O V A R o candidato. A concessão do título está condicionada ao cumprimento das demais exigências previstas no Regimento deste Programa.


Membros da Banca Examinadora:



Prof. Dr. Marcelo Eustáquio Silva
Examinador (UFOP)



Prof. Dr. Rodrigo Cunha Akm de
Menezes
Examinador (UFOP)



Prof. Dr. Herbert Gustavo Simões
Examinador (UCB)



Prof. Dr. Antônio José Natal
Examinador (UFV)



Prof.ª Dr.ª Andreia Carvalho Alzamora
Presidente (UFOP)

DATA DA DEFESA: 13/02/2014



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
NUPEB - ICEB II - sala 49 | Universidade Federal de Ouro Preto
Av. Antônio Carlos, 6627 - Pampulha - CEP 35400-900 - Ouro Preto - MG - Brasil

Trabalho desenvolvido no Laboratório de Hipertensão da Universidade Federal de Ouro Preto com auxílio financeiro da CAPES, PROPP-UFOP, PRONEX-CNPq-FAPEMIG-Rede Toxifar, INCT- Nanobiofar.

“Ninguem vai bater mais forte do que a vida. Não importa como você bate e sim o quanto aguenta apanhar e continuar lutando; O quanto pode suportar e seguir em frente. É assim que se ganha”
(Silvester Stallone – Rocky Balboa)

Dedico este trabalho a minha esposa
Tatiane e meus filhos Isabela e Rafael,
além de todos os meus familiares.

Agradecimentos

A Deus pelas graças que tenho alcançado em minha vida.

A Prof Dr^a Andréia Carvalho Alzamora pela orientação com confiança, ensinamentos, dedicação e apoio. Muito obrigado!!!

A minha esposa Tatiane e meus filhos Isabela e Rafael pelo carinho, apoio e principalmente pela compreensão nos vários momentos de ausência.

A todos os meus familiares pelas palavras de incentivo em todos os momentos.

Aos colegas do laboratório de hipertensão da UFOP: Everton, Claudiane, Uberdan, Thelma, Jamile, Grazi, Maria Andréa, Carol, Soraya, Denise, Leo, Marco Túlio, Marcela TOC, Milla, Gabriela Amâncio, Sherliane, Gabi Hermont.

Aos professores do laboratório de hipertensão da UFOP: Prof. Dr. Mauro César Isoldi, Leonardo Máximo Cardoso, Lisandra Brandino de Oliveira e Raquel do Pilar Machado.

Aos colegas de departamento da UFOP: Prof. Dr. Adailton Eustáquio Magalhães, Prof. Dr. Heber Eustáquio de Paula, Prof. Dr. Paulo Ernesto Antonelli, Prof. Dr. Emerson Cruz de Oliveira, Prof. Dr. Emerson Filipino Coelho, Prof. Dr. Renato Melo Ferreira, Prof. Dr. Francisco Zacaron e em especial Prof. Dr. Everton Rocha Soares e Prof. Dr^a. Lenice Kappes Becker Oliveira pelos ensinamentos.

Ao Sr. Ernani pelo cuidado com os animais.

E aos animais que tiveram suas vidas sacrificadas em prol da ciência.

RESUMO

O presente estudo avaliou a aptidão aeróbica, o efeito da natação sobre a pressão arterial (PA) e frequência cardíaca (FC), bem como a reatividade neuronal do bulbo ventrolateral rostral (RVLM) aos peptídeos Ang-(1-7) e Ang II em ratos com hipertensão renovascular 2R1C. A avaliação da aptidão aeróbica foi realizada através da determinação do limiar de lactato (LL) e limiar glicêmico (LG), identificados pelo teste do lactato mínimo (TLM) e teste da glicose mínima (TGM), respectivamente. A partir da canulação da artéria femoral a PA e FC foram monitoradas por um transdutor de pressão modelo Gould, conectado a um amplificador (ML221 Bridge Amp, AD Instruments). Para as microinjeções na RVLM foi realizada uma craniotomia occipital, seccionando-se a membrana atlanto-occipital e as meninges para exposição da superfície dorsal do tronco cerebral. Todos os procedimentos foram realizados em ratos normotensos (Sham) sedentários (Sed) e submetidos ao exercício de natação (Ex) e nos ratos com hipertensão renovascular 2R1C Sed e Ex. Os principais resultados do presente estudo em relação à avaliação da aptidão aeróbica mostraram que os ratos com hipertensão 2R1C apresentaram o pico da hiperlactacidemia e hiperglicemia tardiamente (16 minutos) em comparação aos ratos Sham (14 minutos), evidenciando um retardo na remoção da [LA] em ratos 2R1C. O teste incremental proposto foi capaz de identificar, tanto em ratos Sham como em 2R1C, o LL e LG, através do TLM e TGM, respectivamente. Além disso, as cargas correspondentes ao LL e LG foram validadas pelo teste da máxima fase estável de lactato (MFEL) em animais Sham e 2R1C. O Ex foi eficiente em reduzir a PA e FC e em alterar a reatividade neuronal da RVLM aos peptídeos angiotensinérgicos Ang-(1-7) e Ang II, e ao antagonista losartana em ratos com hipertensão 2R1C. Em conjunto, nossos resultados mostraram através dos protocolos propostos do TLM e TGM que ratos com hipertensão 2R1C apresentaram menor aptidão aeróbica em relação aos ratos normotensos. Apesar dos TLM e TGM sugerirem que os ratos com hipertensão 2R1C nadaram com intensidade aeróbica mais alta em comparação aos ratos normotensos, o exercício aeróbico de natação foi eficiente em reduzir a PA e FC em ratos com hipertensão renovascular 2R1C provavelmente por induzir neuroplasticidade na RVLM aos peptídeos angiotensinérgicos.

Palavras-Chaves: Aptidão aeróbica; Bulbo ventrolateral rostral; Ang-(1-7); Ang II; Hipertensão renovascular 2R1C.

ABSTRACT

In the present study we evaluated the aerobic fitness, the effect of swimming on blood pressure (BP) and heart rate (HR) and neuronal reactivity of the rostral ventrolateral medulla (RVLM) to peptide Ang-(1-7) and Ang II in rats with 2K1C renovascular hypertension. The aerobic fitness evaluation was performed by determining the lactate threshold (LT) and the glycemic threshold (GT), identified by the lactate minimum test (LMT) and glucose minimal test (GMT), respectively. From the femoral artery BP and HR were monitored by a pressure transducer Model Gould, connected to an amplifier (ML221 Bridge Amp , AD Instruments). For microinjections into the RVLM an occipital craniotomy was performed, sectioning the atlanto-occipital membrane and meninges to expose the dorsal surface of the brain stem. All procedures were performed in normotensive rats (Sham) sedentary (Sed) and submitted to swimming exercise (Ex) and in renovascular hypertension 2K1C rats Sed and Ex. The main results of this study regarding the evaluation of aerobic fitness showed that 2K1C hypertensive rats showed a later (16 minutes) peak of hyperlactacidemia and hyperglycemia compared to Sham rats (14 minutes), indicating a delay in the removal of [LA] in 2K1C rats. The proposed incremental test was able to identify the LL and LG, in both Sham and 2K1C rats, through LMT and GMT respectively. In addition, loads corresponding to the LL and LG were validated by the maximum lactate steady state test (MLSS) in Sham and 2K1C animals. Ex was effective in reducing BP and HR and change the neuronal reactivity in the RVLM to angiotensinergic peptide Ang-(1-7) and Ang II, and to losartan in hypertensive rats 2K1C. Together, our results show through proposed protocols, LMT and GMT, that hypertensive 2K1C rats had lower aerobic fitness compared to normotensive rats. Despite the LMT and GMT protocols suggest that hypertensive 2K1C rats swam with higher aerobic intensity compared to normotensive rats, aerobic swimming exercise was effective in reducing BP and HR in hypertensive renovascular 2K1C rats probably by inducing neuroplasticity to angiotensinergic peptides into the RVLM.

Keywords: Aerobic fitness; rostral ventrolateral medulla; Ang-(1-7); Ang II; Angiotensinergics receptor antagonists; Renovascular hypertension 2K1C.

LISTA DE FIGURAS

Figura 01: Visão corrente do sistema renina angiotensina.....	7
Figura 02: Fotografia de um corte transversal do bulbo corado com vermelho neutro	22
Figura 03: Protocolo das microinjeções de Ang-(1-7) e Ang II	23
Figura 04: Registros típicos da PAP, PAM e FC	27
Figura 05: Valores basais da PA e FC	28
Figura 06: Massa umida do rim esquerdo e direito dos ratos Sham e 2R1C.....	29
Figura 07: Massa umida cardíaca e do ventrículo esquerdo	30
Figura 08: Lactato sanguíneo e glicose sanguínea após o teste de exaustão.....	31
Figura 09: Lactato sanguíneo no teste do lactato mínimo	33
Figura 10: Glicose sanguínea no teste da glicemia mínima	34
Figura 11: Lactato sanguíneo no teste da máxima fase estável de lactato.....	36
Figura 12: Registros típicos da PAP, PAM e FC basais	38
Figura 13: Valores basais da PA e FC em ratos Sham e 2R1C	39
Figura 14: Massa umida do rim esquerdo e direito dos ratos Sham e 2R1C.....	41
Figura 15: Massa umida cardíaca e do ventrículo esquerdo	42
Figura 16: Registros típicos da PAP, PAM e FC após microinjeção de Ang-(1-7) e Ang II..	44
Figura 17: PAM e FC após microinjeção de Ang-(1-7) e Ang II na RVLM	46

LISTA DE ABREVIATURAS

2R1C – hipertensão renal do tipo dois-rins, um clipe de Goldblatt

A-779 – antagonista do receptor Mas

Ang I – angiotensina I

Ang II – angiotensina II

Ang III – angiotensina III

Ang-(1-12) – Angiotensina-(1-12)

Ang-(1-7) – angiotensina-(1-7)

ANOVA – análise de variância

ANSL – atividade nervosa simpática lombar

AT1 – receptor angiotensinérgico do tipo 1 para Ang II

AT2 – receptor angiotensinérgico do tipo 2 para Ang II

bpm – batimentos por minuto

CVLM – bulbo ventrolateral caudal

ECA – enzima conversora de angiotensina

ECA2 – enzima conversora de angiotensina 2

EPM – erro padrão da média

Ex- exercício físico

FC – frequência cardíaca

HA – hipertensão arterial

HZ - hertz

ICV - intracerebroventricular

IM – intramuscular

Kg – kilograma

LG – limiar glicêmico

LL – limiar de lactato

Losartana – antagonista do receptor AT1 de Ang II (DUP 753)

Mas – receptor angiotensinérgico para Ang-(1-7)

mg – miligrama

mL – mililitro

mm – milímetros

mmol - milimol

mmHg – milímetros de mercúrio

NEP- endopeptidase neutra

nL - nanolitro

NTS – núcleo do trato solitário

PA – pressão arterial
PAM – pressão arterial média
PAP – pressão arterial pulsátil
PC – computador pessoal
PD123319 – antagonista do receptor AT2 de Ang II
PEP - prolilendopeptidase
RSNA – atividade nervosa simpática renal
RVLM – bulbo ventrolateral rostral
Sed - sedentário
Sham – grupo submetido à cirurgia fictícia, grupo normotenso
SHR – rato espontaneamente hipertenso
SNA – sistema nervoso autônomo
SNC - sistema nervoso central
SRA – sistema renina angiotensina
TGM – teste da glicose mínima
TLM – teste do lactato mínimo
UI – unidades internacionais
 μg - micrograma
 μL – microlitro
 Δ – delta, variação

SUMÁRIO

RESUMO.....	IX
ABSTRACT	X
LISTA DE ABREVIATURAS	XII
1 INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Determinação do Limiar de Lactato	1
1.2 Exercício Físico e Avaliação da Aptidão Aeróbica.....	3
1.3 Sistema Renina Angiotensina	5
1.3.1 Abordagem Clássica do Sistema Renina-Angiotensina	5
1.3.2 Receptores angiotensinérgicos: Ang II e Ang-(1-7).....	8
1.3.3 Ações da Ang II e Ang-(1-7) na RVLM	9
1.4 Hipertensão Arterial e Sistema Nervoso Central	10
1.5 Exercício Físico e Neuroplasticidade Central	12
2 OBJETIVOS.....	15
2.1 Objetivo Geral.....	15
2.2 Objetivos Específicos.....	15
3 MATERIAIS E MÉTODOS	16
3.1 Animais.....	16
3.2 Cirurgia para o Desenvolvimento da Hipertensão Renovascular.....	16
3.3 Natação	17
3.4 Dosagens Sanguíneas do Lactato e da Glicose.....	17
3.5 Teste de Indução a Hiperlactacidemia e Hiperglicemia	18
3.6 Teste do Lactato Mínimo e da Glicose Mínima	18
3.7 Teste para Determinação da Máxima Fase Estável do Lactato Sanguíneo.....	19
3.8 Confecção de Cânulas Vasculares	19
3.9 Procedimentos Cirúrgicos para Avaliações Cardiovasculares.....	19
3.9.1 Anestesia.....	19
3.9.2 Traqueostomia	19
3.9.3 Canulação e Isolamento de Artéria e Veia Femorais	20
3.10 Registro da PAM e FC	20
3.11 Exposição do Bulbo para Realização de Microinjeções na RVLM.....	20
3.12 Procedimentos de Microinjeções no Bulbo Ventrolateral Rostral	21
3.13 Verificação histológica da localização das microinjeções na RVLM	21
3.14 Drogas Utilizadas.....	22
3.14.1 Anestésicos:.....	22
3.14.2 Demais Drogas:	22
3.15 Preparo de Soluções	22
3.16 Protocolos Experimentais	23
3.16.1 Efeito da Ang-(1-7) e Ang II, e de seus respectivos antagonistas na RVLM sobre a PAM e FC.....	23

3.17 Análise Estatística.....	24
4 RESULTADOS	25
4.1. Caracterização da Hipertensão Renovascular 2R1C	25
4.1.1. Avaliação Indireta da PAM, FC, PAD e FC por 4 semanas.....	25
4.1.2 Avaliação direta dos Níveis Basais da PAM e FC	27
4.1.3 Avaliação da Massa Úmida dos Rins	28
4.1.4 Avaliação da Massa Úmida Cardíaca.....	29
4.2. Determinação dos Testes do lactato mínimo e da Glicose Mínima	30
4.2.1. Lactato Sanguíneo a Glicose Sanguínea após Teste de Exaustão (Teste de Hiperlactacidemia/Hiperglicemia).....	30
4.2.2. Identificação dos testes do Lactato Mínimo e da Glicose Mínima	32
4.2.3. Teste para Determinação da Máxima Fase Estável do Lactato Sanguíneo	34
4.4 Efeitos cardiovasculares produzidos pela Ang-(1-7), Ang II e de seus antagonistas na RVLM	36
4.4.1. Efeito da Ang-(1-7) e Ang II na RVLM sobre a PAM e FC.....	36
4.4.2. Efeito da microinjeção de A-779 e losartana na RVLM sobre a PAM e FC	40
4.4.3 Efeito do A-779 na RVLM sobre microinjeções sucessivas de Ang-(1-7)	43
4.4.4 Efeito da losartana na RVLM sobre microinjeções sucessivas de Ang II.....	45
5 DISCUSSÃO.....	47
5.1 Caracterização da Hipertensão Renovascular 2R1C em Ratos Submetidos ao Exercício aeróbico	47
5.2 Avaliação da Aptidão Aeróbica em Ratos com Hipertensão 2R1C	49
5.3 Microinjeção dos Peptídeos Angiotensinérgicos na RVLM em ratos 2R1C Ex.....	52
6 CONCLUSÃO	57
REFERÊNCIAS	58
ANEXO A.....	72
Tabelas das Avaliações Cardiovasculares, da Caracterização da Hipertensão Renovascular 2R1C e da Aptidão Aeróbia	72
ANEXO B.....	77
Tabelas dos Efeitos sobre a PAM e FC induzidos por microinjeções na RVLM	77

1 INTRODUÇÃO

1.1 Determinação do Limiar de Lactato

O fornecimento de energia para a realização do exercício físico (Ex) ocorre predominantemente pelo metabolismo aeróbio ou anaeróbio. Quando é aumentada a intensidade do Ex de forma progressiva atinge-se uma intensidade na qual a concentração de lactato sanguíneo ([LA]) aumenta proporcionalmente devido a um incremento na contribuição anaeróbica para a ressíntese de ATP. Essa transição do metabolismo aeróbio/ anaeróbio é amplamente utilizada na avaliação e prescrição do Ex (1999; TEGT BUR e cols., 2001) conhecida como limiar anaeróbio (Lan). A identificação do Lan pode ser realizada durante teste incremental através da resposta da [LA] (WELTMAN e cols., 1994), catecolaminas (CHMURA e cols., 1994), cortisol plasmático (PORT, 1991), frequência cardíaca (FC) (CONCONI e cols., 1982), concentração da glicose sanguínea [Glic] (SIMOES e cols., 1999), variáveis ventilatórias (WASSERMAN e MCILROY, 1964) e sinais eletromiográficos (TAYLOR e BRONKS, 1994; CHWALBINSKA-MONETA e cols., 1998).

O termo Lan tem sido alvo de críticas na literatura e, por isso, atualmente a terminologia adotada está diretamente relacionada ao método aplicado para a determinação do Lan como, por exemplo, limiar de lactato (LL) (SVEDAHL e MACINTOSH, 2003). A determinação do LL e da máxima fase estável de lactato (MFEL) são os métodos atuais mais empregados para a avaliação da capacidade aeróbia através da resposta da [LA] ao Ex (CUNHA e cols., 2009).

A MFEL se refere ao balanço entre a produção e remoção do lactato sanguíneo durante o Ex, sendo determinada em sessões de Ex retangular. A MFEL é fortemente correlacionada com o LL sendo definida como a maior intensidade de Ex que pode ser mantida por um longo período sem mudanças significativas na resposta da [LA] (HAVERTY e cols., 1988; BILLAT e cols., 2003; FERREIRA, J. C. e cols., 2007), e é considerado o método padrão-ouro na avaliação da capacidade aeróbia (PILIS e cols., 1993; BENEKE e VON DUVILLARD, 1996; MATTERN e cols., 2003). Dessa forma, a validade de qualquer método que utilize a resposta da [LA] ao Ex, como por exemplo, o LL, leva em consideração a capacidade desse método em estimar a MFEL. Vários estudos investigaram a relação entre a MFEL e o LL em ratos Wistar durante a natação (GOBATTO e cols., 2001; MANCHADO-GOBATTO e cols., 2006; CUNHA, CUNHA, SEGUNDO, MOREIRA e cols., 2008; CUNHA, CUNHA, SEGUNDO, PACHECO e cols., 2008; CUNHA e cols., 2009), corrida em esteira (CARVALHO e cols., 2005; MANCHADO-GOBATTO e cols., 2006) e

camundongos durante a corrida em esteira (BILLAT e cols., 2005; FERREIRA, A. J. e cols., 2007).

Diversos estudos com animais investigaram a resposta ao Ex associada a algumas patologias como a obesidade e diabetes (VOLTARELLI e cols., 2003; LINDSTROM, 2007; PINHEIRO e cols., 2007; BOTEZELLI e cols., 2011), desnutrição (PAPOTI e cols., 2003) e hipertensão arterial (HA) (SCHULTZ e cols., 2007; SOARES e cols., 2011; SHAH e cols., 2012). Porém, mesmo o Ex sendo considerado uma importante ferramenta no tratamento não farmacológico e/ ou na prevenção de muitas doenças, a avaliação da aptidão aeróbia e prescrição do Ex em animais ainda carece de maiores esclarecimentos, especialmente em animais hipertensos.

Como já mencionado, a determinação da MFEL é considerado o método padrão-ouro para a avaliação da capacidade aeróbica, apesar disso o teste da MFEL requer a realização de três a cinco sessões de Ex com duração de vinte a trinta minutos em diferentes dias, fazendo com que seja um teste menos prático, principalmente para populações especiais. Nesse sentido, estudos sobre a avaliação da aptidão aeróbica em uma única sessão de testes para os ratos foram realizados em animais adultos jovens (GOBATTO e cols., 1991; GOBATTO e cols., 2001; BILLAT e cols., 2003; MANCHADO-GOBATTO e cols., 2006), a maioria deles utilizaram o teste do lactato mínimo (TLM). O TLM foi proposto por Tegtbur e cols. (1993) como sendo uma metodologia diferente de determinação da MFEL. O TLM é iniciado com um Ex supramáximo para que ocorra um grande aumento da [LA], seguido de um descanso de oito minutos. Em seguida, dá-se início ao teste incremental. Durante o teste incremental há uma diminuição da [LA], por sua remoção ser maior que a produção, até que se atinja um valor individual mínimo, a partir do qual começa a ocorrer um novo aumento da [LA]. Esse ponto mínimo da [LA] representa o equilíbrio entre a liberação de lactato no sangue e sua remoção (AZEVEDO e cols., 2009). Entretanto, em nossa revisão de literatura não foi possível identificar um estudo que tivesse utilizado o TLM em ratos com HA ou qualquer outro protocolo de avaliação da aptidão aeróbica na natação em ratos com HA.

Na tentativa de se dispor de novos parâmetros fisiológicos válidos, de fácil aplicação prática e de baixo custo financeiro, alguns pesquisadores (SCHNABEL e cols., 1982; SIMOES e cols., 1998; SIMOES e cols., 1999) tem testado a [Glic] como indicador da determinação do Lan, metodologia conhecida como teste da glicose mínima (TGM). Portanto, parece plausível testar a possibilidade da identificação do Lan em ratos com HA através do TGM.

Na HA ocorre aumento na resistência a insulina (REYNOLDS e cols., 2002; AKANDE e cols., 2013), aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (SANTANGELO e cols., 2003; KLIMA e cols., 2011), alterações no metabolismo do carboidrato (RHEAUME e cols., 2003; SAPOZHNIKOVA e cols., 2013), alterações no

metabolismo do glicogênio muscular (RHEAUME e cols., 2003; SCHULTZ e cols., 2013). Portanto, será que a aptidão aeróbica é a mesma entre ratos normotensos e com hipertensão renovascular 2R1C? Além disso, será que o TLM aplicado em ratos normotensos é aplicável em ratos com hipertensão renovascular 2R1C?

Assim, acreditamos que a padronização de protocolos para a avaliação da aptidão aeróbia na natação em ratos hipertensos possibilitará o entendimento sobre os efeitos de diferentes intensidades de Ex em relação a diversos parâmetros cardiovasculares nessa patologia. Dessa forma, esses resultados contribuiriam para uma melhor prescrição de Ex com o objetivo de prevenção e/ou controle da HA em seres humanos.

1.2 Exercício Físico e Avaliação da Aptidão Aeróbica

A avaliação da aptidão aeróbica compreende o acompanhamento dos efeitos induzidos pelo Ex regular. O teste aplicado na avaliação da aptidão aeróbica tem que ser suficientemente sensível para detectar as modificações sistêmicas e enzimáticas que são decorrentes da realização do Ex regular. A resposta da [LA] tem se mostrado sensível para as adaptações impostas pelo Ex agudo e crônico. Em relação às adaptações impostas pelo Ex crônico observa-se em cargas submáximas de exercício um desvio da curva da [LA] à direita, essa adaptação parece ocorrer em função da maior taxa de remoção deste substrato durante o Ex, com pouca ou nenhuma modificação na taxa de produção (DONOVAN e BROOKS, 1983; BROOKS, 1991).

Apesar das evidências científicas mostrarem que a aptidão aeróbia pode ser quantificada através da resposta da [LA] em humanos (SIMOES e cols., 1999; BENEKE e cols., 2000) e animais (VOLTARELLI e cols., 2002; VOLTARELLI e cols., 2005), em nossa revisão de literatura apenas o estudo de Gobatto e cols. (2001) investigou a resposta da [LA] após a realização do Ex crônico de natação em ratos. Os resultados mostraram que os ratos que nadaram com carga de 8% da massa corporal por nove semanas apresentaram menor resposta da [LA] em relação aos ratos sedentários. Além disso, os ratos exercitados não aumentaram a resposta da [LA] durante os 20 minutos de natação, diferentemente dos ratos sedentários. Esses dados mostram que a resposta [LA] foi sensível em identificar as adaptações sistêmicas e enzimáticas decorrentes do treinamento físico, evidenciando que os ratos exercitados apresentaram melhor aptidão aeróbia em relação aos ratos sedentários. Entretanto, ainda não é sabido se a resposta da [LA] é sensível em identificar as adaptações sistêmicas e enzimáticas decorrentes da prática da natação regular em ratos com algum tipo de patologia, especialmente a HA. Não obstante, sabendo que a resposta da glicemia sanguínea ao Ex é semelhante à resposta da [LA] (JUNIOR e cols., 2001),

parece plausível que a glicemia sanguínea também deva ser testada como possível marcador de melhoria da aptidão aeróbia de ratos hipertensos.

Outro importante método de se avaliar a aptidão aeróbia é mensurar as respostas cardiovasculares decorrentes da prática do Ex regular. Estudos em humanos e animais hipertensos têm mostrado que o Ex regular de baixa intensidade aeróbia é eficaz em causar reduções significativas na pressão arterial (PA) e FC em repouso, e em restaurar a bradicardia reflexa (VERAS-SILVA e cols., 1997; RODRIGUES e cols., 2007; SOARES e cols., 2011). Da mesma forma, dados de nosso laboratório mostraram que a natação de baixa intensidade por cinco semanas, além de reduzir a PA e FC, reduziu os pesos relativos do coração e do ventrículo esquerdo de animais com HA, em comparação com os animais sedentários (RODRIGUES e cols., 2007; SOARES e cols., 2011).

Apesar dos consistentes resultados sobre os efeitos cardiovasculares benéficos do Ex regular em condições hipertensivas em humanos (WHELTON e cols., 2002; PITSAVOS e cols., 2011) e animais (KRAMER e cols., 2001; RODRIGUES e cols., 2007; SOARES e cols., 2011), esses benefícios adaptativos são dependentes de fatores como a carga de treinamento, duração e frequência (FROHLICH, 2000; BOISSIERE e cols., 2006; MORAES-SILVA e cols., 2010). O Ex de intensidade baixa a moderada tem sido reconhecido por proporcionar melhores benefícios cardiovasculares do que Ex de alta intensidade (VERAS-SILVA e cols., 1997; FAGARD, 2001; SOARES e cols., 2011). Esses efeitos benéficos do Ex incluem diminuição da atividade do sistema nervoso simpático (SNS), resistência vascular e os níveis plasmáticos de angiotensina (Ang) II, e melhorada sensibilidade do controle barorreflexo da FC e remodelamento cardíaco (VERAS-SILVA e cols., 1997; BRAITH e cols., 1999; HAYASHI e cols., 2000; BOISSIERE e cols., 2006; SOARES e cols., 2011). Embora os benefícios cardiovasculares adaptativos do Ex regular estejam bem estabelecidos em estudos com modelo animal, ainda não é conhecido se essas adaptações cardiovasculares em animais hipertensos são acompanhadas de melhorias no desempenho físico.

1.3 Sistema Renina Angiotensina

1.3.1 Abordagem Clássica do Sistema Renina-Angiotensina

O controle da PA ocorre através de mecanismos complexos que envolvem o sistema nervoso, renal e diversos mecanismos hormonais, em curto e em longo prazo. Entre os sistemas de controle em longo prazo da PA o mais amplamente estudado é o SRA, por ser um importante regulador fisiológico da PA e do equilíbrio hidro-eletrolítico. Classicamente o SRA é caracterizado como um sistema endócrino circulante (BRUNNER e cols., 1972; PEACH, 1977). Entretanto, componentes do SRA foram identificados por técnicas de bioquímica e de biologia molecular em tecidos como o coração, vasculatura, rins, tecido adiposo, glândulas endócrinas e cérebro, indicando a possibilidade de formação local de todos os peptídeos biologicamente ativos desse sistema, sem a participação do sistema endócrino circulante (PHILLIPS e cols., 1979; WOLLERT e DREXLER, 1999; SANTOS e cols., 2000; CAREY e SIRAGY, 2003; KUSSEROW e UNGER, 2004; FERRARIO, 2006).

A partir do século XIX, período em que ocorreu a descoberta do SRA, diversos estudos vêm contribuindo para uma caracterização mais completa do SRA mostrando a existência de vários mediadores, receptores, vias enzimáticas e diversas ações endócrinas, parácrinas e autócrinas (WRIGHT e HARDING, 1992; SANTOS e cols., 1994; FERRARIO e cols., 1998).

Na figura 01 está representada a cascata clássica do SRA. Essa cascata pode ser descrita a partir do angiotensinogênio, um pró-hormônio de 255 aminoácidos que é o ponto de partida na formação de peptídeos ativos do SRA. O angiotensinogênio é hidrolisado pela enzima renina formando o decapeptídeo Ang I. Em seguida, com a retirada de dois aminoácidos da extremidade carboxi-terminal da Ang I pela ação da enzima conversora de angiotensina (ECA) (PEACH, 1977) é formado o importante efetor do SRA, a Ang II. Contudo, outras enzimas também são capazes de mediar o processo de conversão da Ang I para Ang II, como por exemplo, a quinase no coração humano (URATA e cols., 1990). Além disso, a Ang II pode ser convertida em Ang III ou Ang IV a partir de aminopeptidases (AMP). A Ang III tem suas ações relacionadas a Ang II, por se ligar aos mesmos receptores de Ang II (CAMPBELL, 2003). Em contra partida, a Ang IV exerce seus efeitos inibindo a atividade catalítica das aminopeptidases regulada por insulina (IRAP), aumentando, portanto a meia-vida de peptídeos endógenos hidrolisados pelas IRAP (ALBISTON e cols., 2001).

Outro importante componente biologicamente ativo do SRA é a Ang-(1-7), este peptídeo pode ser formado pela conversão direta da Ang I em Ang-(1-7), sendo esta reação mediada por várias enzimas como: prolilendopeptidase (PEP) em células endoteliais vasculares (SANTOS e cols., 1992), endopeptidase neutra (NEP) na circulação ou no rim (YAMAMOTO e cols., 1992) e oligopeptidase em células do músculo liso vascular (CHAPPELL e cols., 1995). Além disso, estudos com a recém descoberta ECA2, homólogo da ECA1, tem mostrado que esta enzima medeia a formação da Ang-(1-7) a partir da Ang II (DONOGHUE e cols., 2000; TIPNIS e cols., 2000; VICKERS e cols., 2002). Por outro lado, estudo de Reudelhuber (2006) relata que esta reação não é muito favorável do ponto de vista cinético, uma vez que a afinidade da Ang II para seus receptores é três vezes maior do que para ECA2, o que pode representar um fator limitante para a formação de Ang-(1-7) através dessa via. Contrariamente, outros estudos têm postulado uma alta eficiência catalítica da ECA2 para formar Ang-(1-7) a partir da Ang II, prevenindo assim o acúmulo de Ang II (GURLEY e COFFMAN, 2008; SANTOS e cols., 2008; VARAGIC e cols., 2008).

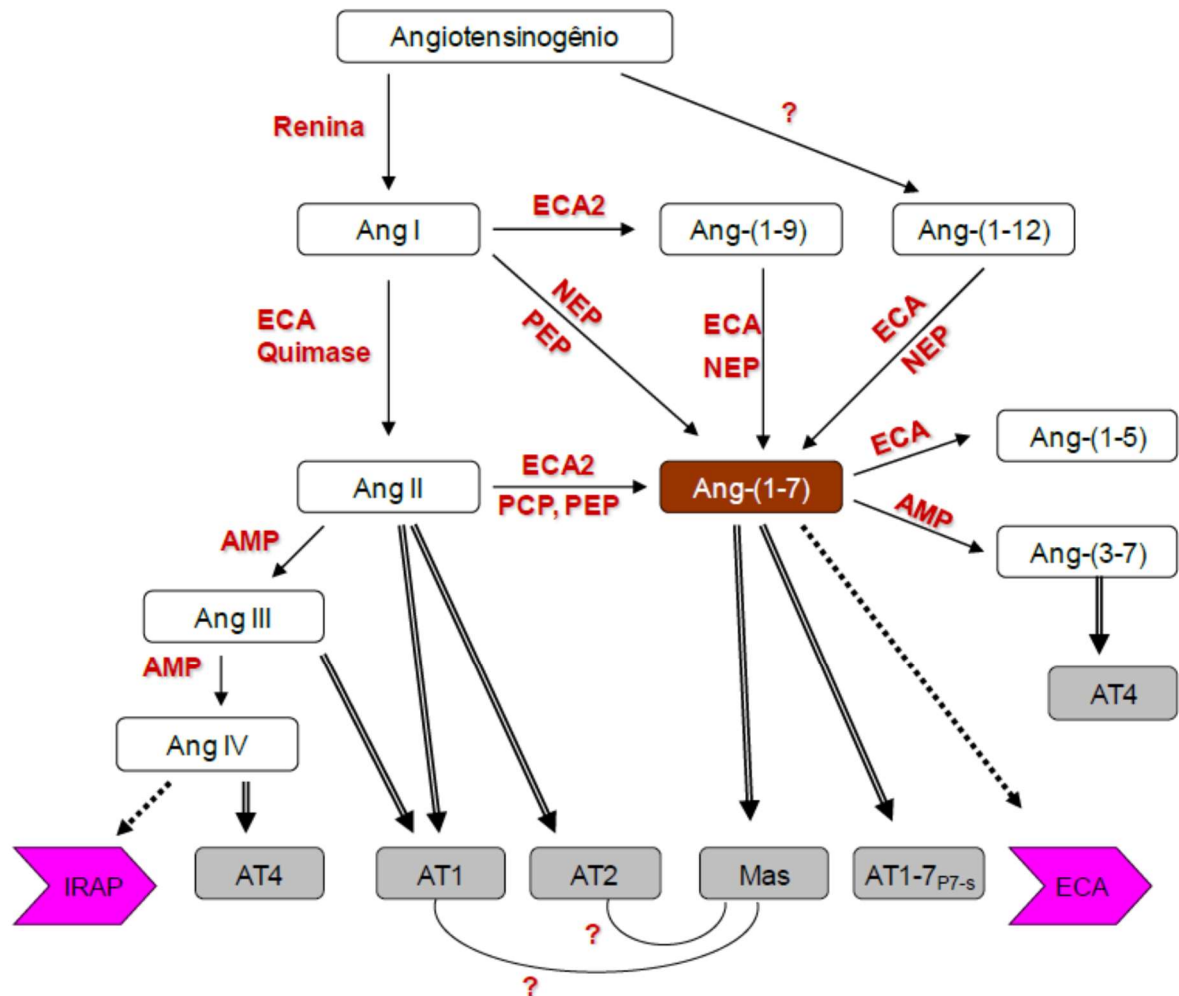


Figura 01: Visão corrente do sistema renina angiotensina. Caixas cinza indicam os receptores que medeiam os efeitos agonistas (setas duplas) dos peptídeos. Setas simples representam as conversões metabólicas. Setas pontilhadas indicam interações entre peptídeos e enzimas. Ang = Angiotensina; ECA = enzima conversora de angiotensina; ECA2 = enzima conversora de angiotensina do tipo 2; IRAP = aminopeptidase reguladas por insulina; AT4 = receptor do tipo 4 de Ang IV e Ang-(3-7); AT1 = receptor do tipo 1 de Ang II; AT2 = receptor do tipo 2 de Ang II; Mas = receptor relacionado à proteína G e que medeia os efeitos da Ang-(1-7); AT1-7_{P7-s} = receptor de Ang-(1-7) que é inibido pelo D-pro7-angiotensina-(1-7); PCP = prolilcarboxipeptidase; PEP = prolilendopeptidase; NEP = endopeptidase neutra; AMP = aminopeptidase (Adaptado de HANDA, 2000; SANTOS e FERREIRA, 2007; IUSUF e cols., 2008).

1.3.2 Receptores angiotensinérgicos: Ang II e Ang-(1-7)

Os antagonistas angiotensinérgicos específicos possibilitou a confirmação da existência de receptores específicos para Ang II e Ang-(1-7). A utilização dos antagonistas de Ang II (losartana e PD123319) possibilitou confirmar a existência de pelo menos 2 subtipos de receptores para a Ang II: o receptor AT1, que é sensível a losartana (DUP 753); e o receptor AT2, que é sensível ao PD123319 (CHIU e cols., 1989; WONG e cols., 1990; BOTTARI e cols., 1992). Por outro lado, a utilização do antagonista específico da Ang-(1-7), D-Ala⁷-Ang-(1-7) (A779), demonstrou a existência de um receptor de Ang-(1-7) que é diferente dos receptores AT1 e AT2 da Ang II (SANTOS e CAMPAGNOLE-SANTOS, 1994; TALLANT e cols., 1997).

Assim como descrito acima, a Ang II exerce suas ações se ligando a dois subtipos de receptores distintos, o receptor AT1 e o receptor AT2 (KUSSEROW e UNGER, 2004). O derivado imidazólico losartana se liga ao receptor AT1, no entanto o PD123319, CGP42112A e PD123177, e não a losartana, se ligam ao receptor AT2 (WHITEBREAD e cols., 1989; SPETH e KIM, 1990; BUMPUS e cols., 1991). Embora a Ang II se ligue aos subtipos de receptores AT1 e AT2, é sua ligação ao receptor AT1 que medeia a maioria dos efeitos cardiovasculares da Ang II, incluindo o estresse oxidativo, a liberação de norepinefrina, a vasoconstrição, a secreção de aldosterona, a reabsorção renal de sódio, a estimulação simpática, a liberação de vasopressina, a hipertrofia celular vascular e cardíaca e, a proliferação celular; (STRAWN e cols., 1999; NICKENIG e HARRISON, 2002a; b) efeitos que podem levar à HA. A Ang II através do receptor AT1 pode também promover mudanças neuroendócrinas, como a ativação do eixo hipotalâmico-hipófise-adrenal, que também estão associadas com a hipertensão essencial (JOHREN e cols., 2004).

Dados da literatura mostram que a Ang II, através do receptor AT2, participa de múltiplas funções fisiológicas, incluindo natriurese (LO e cols., 1995), efeitos sobre a PA (HU e cols., 2002), autorregulação do fluxo sanguíneo cerebral (STROMBERG e cols., 1993) e apoptose. Johren e cols. (2004) mostraram elevação da PA em camundongos deficientes de receptores AT2, sugerindo um papel direto ou indireto dos receptores AT2 no controle cardiovascular e/ ou na homeostasia dos fluidos corporais.

A Ang-(1-7) tem suas ações associadas a um receptor ligado à proteína G denominado receptor Mas, que foi identificado como receptor endógeno da Ang-(1-7) (SANTOS e cols., 2003). A expressão do receptor Mas é maior no cérebro (hipocampo, córtex piriforme e bulbo olfatório) e testículos (células Leydinge e de Sertoli) e é menor nos rins, coração e vasos sanguíneos (METZGER e cols., 1995; ALENINA e cols., 2002). Os mecanismos de sinalização que medeiam as ações da Ang-(1-7) via receptor Mas não

estão totalmente elucidadas. No entanto, Sampaio e cols. (2007) mostraram que a Ang-(1-7) através do receptor Mas é capaz de liberar óxido nítrico (NO) endotelial por uma via dependente da proteína Akt. Além disso, estudos demonstraram a importância desse receptor na regulação de processos fisiológicos, uma vez que em camundongos com deleção genética do receptor Mas, observou-se redução da variabilidade da FC (WALTHER e cols., 2000), bloqueio da atividade antidiurética e vasodilatadora induzida pela Ang-(1-7) (SANTOS e cols., 2003) e comprometimento da função cardíaca, com alterações estruturais provavelmente secundárias às características morfológicas pró-fibróticas do miocárdio desses animais (SANTOS e cols., 2006).

1.3.3 Ações da Ang II e Ang-(1-7) na RVLM

A RVLM é uma importante região bulbar com neurônios simpatoexcitatórios que se projetam para medula espinhal, desempenhando importante função na regulação da ativação simpática e controle da PA. A atividade dos neurônios da RVLM é regulada por ambos os neurotransmissores excitatórios e inibitórios, Glutamato e GABA, respectivamente. Adicionalmente, alterações na excitabilidade dos neurônios excitatórios ou inibitórios podem contribuir para condições patológicas como a HA (DAMPNEY, 1994; BERGAMASCHI e cols., 1995; BROOKS, FREEMAN e CLOW, 2004; BROOKS, FREEMAN e O'DONAUGHY, 2004). Nesse sentido, estudos mostram que na HA observa-se uma hiperatividade da RVLM (GUERTZENSTEIN, 1973; CAMPOS JUNIOR e GUERTZENSTEIN, 1989; MUELLER, 2010; OLIVEIRA-SALES e cols., 2010; ZHOU e cols., 2010).

Os diferentes peptídeos do SRA tem direta influência nas áreas bulbares do sistema nervoso central (SNC) que controlam a PA em curto e em longo prazo (SANTOS e cols., 2000; FERRARIO e STRAWN, 2006), especialmente sobre os neurônios do bulbo ventrolateral (VLM) (ALZAMORA e cols., 2006). As fibras barorreceptoras aferentes, localizadas no seio carotídeo e arco aórtico (SVED e GORDON, 1994; DAMPNEY e cols., 2002), se projetam para o bulbo, no núcleo do trato solitário (NTS), que integra os sinais periféricos com sinais que chegam de outras regiões como diencéfalo e telencéfalo (FELDMAN e ELLENBERGER, 1988), para determinar a atividade do sistema nervoso autônomo (SNA). O NTS possui projeções excitatórias para o bulbo ventrolateral caudal (CVLM), área depressora que promove inibição sobre a região excitatória da RVLM, através de uma via neuronal ascendente (AGARWAL e CALARESU, 1990; 1991).

Zhou e cols. (2010) mostraram que ambas as microinjeção de Ang-(1-7) e Ang II na RVLM aumentaram o reflexo aferente cardíaco, a atividade nervosa simpática renal e a PAM. De acordo com outros estudos, os efeitos da Ang II foram abolidos após a microinjeção do antagonista do receptor AT1 losartana (CHIU e cols., 1989; WONG e cols., 1990; BOTTARI e cols., 1992; FONTES e cols., 1997) e os efeitos da Ang-(1-7) foram abolidos após a microinjeção do antagonista do receptor Mas A-779 (SANTOS e CAMPAGNOLE-SANTOS, 1994; FONTES e cols., 1997; TALLANT e cols., 1997).

1.4 Hipertensão Arterial e Sistema Nervoso Central

A HA é responsável por um grande número de mortes no mundo e no Brasil. Em decorrência da HA registra-se um grande número de mortes por doença cardiovascular, acidente vascular encefálico e isquemia do coração (SBH, 2010). Segundo as diretrizes da sociedade brasileira de hipertensão (SBH, 2010) mais de 30% da população adulta é hipertensa, sendo que acima de 70 anos de idade essa incidência sobe para mais de 75% dessa população.

A origem multifatorial da HA (neural, humoral, miogênico) contribuiu para o aparecimento de diversos modelos experimentais de HA que visam elucidar essa patologia tão frequente no ser humano (VERAS-SILVA e cols., 1997; KRIEGER e cols., 1999; FAZAN e cols., 2001; RODRIGUES e cols., 2007; DU e cols., 2013). Além disso, diferentes modelos de HA em animais são usados para estudar essa patologia, tais como os modelos de hipertensão renovascular, hipertensão DOCA-sal, hipertensão neurogênica, hipertensão induzida por estresse e hipertensão em ratos espontaneamente hipertensos – SHR (FAZAN e cols., 2001; WANG, D. S. e cols., 2005; RODRIGUES e cols., 2007; DU e cols., 2013; VALENTI e cols., 2009).

Dentre os modelos de hipertensão renovascular destaca-se o modelo de hipertensão dois rins e um clipe (2R1C), proposto por Goldblatt e cols. (1934). Goldblatt e cols. (1934) mostraram uma considerável elevação da PA em cães, cujo suprimento de sangue aos rins era reduzido através da colocação de um clipe de prata na artéria renal. Nesse modelo, além do aumento crônico na PA, se observa disfunção endotelial, hipertrofia cardíaca e hipertrofia do rim contralateral ao rim clipado (AKABANE e cols., 1985; PINTO e cols., 1998; SOARES e cols., 2011). A HA nesse modelo ocorre devido ao aumento da atividade do SRA plasmática, tecidual e cerebral, sendo responsável pelas alterações cardiovasculares. Essa maior atividade do SRA leva ao aumento do tônus vasomotor simpático e ao prejuízo na função barorreflexa, desencadeando a HA (CERVENKA e cols., 2002; PLADYS e cols.,

2004; WANG, J. e cols., 2005; CANGUSSU e cols., 2009). Além disso, estudos mostram que esse modelo provoca alterações sobre a atividade dos neurônios do VLM, levando ao prejuízo na função barorreflexa (OLIVEIRA e cols., 1996; PLADYS e cols., 2004; WANG, D. S. e cols., 2005). Lazartigues e cols. (2004) mostraram aumentos nos níveis plasmáticos de Ang II a partir da primeira semana da colocação do clipe de prata em camundongos (cirurgia 2R1C). Entretanto, um mês após a cirurgia observou-se uma redução nos níveis plasmáticos de Ang II. Contudo, os níveis cerebrais de Ang II estavam aumentados na fase crônica da hipertensão renovascular 2R1C. Dessa forma, na fase crônica da HA o SRA tecidual é o responsável pelos aumentos da PA.

Em diversas formas de HA, dentre as quais a hipertensão renovascular está incluída, tem sido descrito um desequilíbrio na atividade neuronal entre as áreas pressoras e depressoras localizadas no VLM (HEESCH, 1999; SVED e cols., 2000; CARVALHO e cols., 2003). Parte deste desequilíbrio pode ser devido a uma inabilidade dos neurônios da CVLM em contrabalancear o aumento da atividade intrínseca dos neurônios da RVLM em animais hipertensos (SVED e cols., 2000; CARVALHO e cols., 2003; PINHO e cols., 2006).

Estudos mostraram que a Ang II age na RVLM e na CVLM como um agente excitatório, tanto em animais anestesiados (MURATANI e cols., 1993; SESOKO e cols., 1995; AVERILL e DIZ, 2000; ALZAMORA e cols., 2002; 2006) quanto em animais acordados (FONTES e cols., 1997; BECKER e cols., 2005). No entanto, a Ang II produz um maior efeito pressor na RVLM de ratos SHR em relação a ratos normotensos (CHAN e SAWCHENKO, 1998; SEYEDABADI e cols., 2001; HU e cols., 2002). Os efeitos simpatoexcitatórios da Ang II microinjetada na RVLM são abolidos pela losartana, antagonista específico do receptor AT1 (AVERILL e cols., 1994; TAGAWA e cols., 2000; GAO e cols., 2005). Adicionalmente, microinjeções de peptídeos angiotensinérgicos na RVLM promovem um efeito pressor associado com o aumento na atividade nervosa simpática renal (ANSR) (DAMPNEY, 1994; SANTOS e CAMPAGNOLE-SANTOS, 1994). Por outro lado, Hu e cols. (2002) mostraram que ratos hipertensos apresentam um aumento na expressão de receptores AT1 na RVLM. Dados recentes de nosso laboratório mostraram que ocorrem alterações na responsividade neuronal de alguns receptores angiotensinérgicos nos neurônios da CVLM de animais com hipertensão renovascular 2R1C quando comparados aos animais normotensos. Cangussu e cols. (2009) e Rodrigues e cols. (2007) mostraram que a microinjeção na CVLM do A-779, antagonista do receptor Mas da Ang-(1-7), e do PD123319, antagonista do receptor AT2 da Ang II, apesar de abolirem respectivamente o efeito da Ang-(1-7) e Ang II na CVLM, produziram um efeito hipotensor significativo em relação ao efeito induzido pela microinjeção de salina somente nos ratos com hipertensão 2R1C e não nos ratos normotensos. Esses dados sugerem um aumento na atividade da enzima ECA2 e/ ou na expressão do receptor Mas e AT2 na CVLM, de forma a tentar contrarregular a maior atividade neuronal da RVLM que ocorre nos ratos 2R1C.

Os efeitos pressores induzidos pela microinjeção de Ang-(1-7) e Ang II na RVLM de ratos hipertensos são maiores em relação a ratos normotensos (NAKAGAKI e cols., 2011; DU e cols., 2013). Entretanto, a microinjeção do heptapeptídeo Ang-(1-7) na RVLM de ratos hipertensos e normotensos produz elevação da PA e FC semelhante aos efeitos observados pela microinjeção de Ang II (MURATANI e cols., 1993; SILVA e cols., 1993; FONTES e cols., 1997). Contrariamente a Ang II, os efeitos simpatoexcitatórios produzidos pela Ang-(1-7) na RVLM não são bloqueados pela losartana, mas seus efeitos são abolidos pelo antagonista do receptor Mas, A-779 (FONTES e cols., 1997).

Dados não publicados (CANGUSSU, 2008) de nosso laboratório mostram que a microinjeção de Ang II e Ang-(1-7) na RVLM produziu aumento da PAM de ratos sedentários normotensos (Sham) e com hipertensão renovascular 2R1C, contudo a resposta hipertensiva foi maior nos ratos 2R1C em relação aos ratos Sham. A microinjeção do antagonista do receptor AT1 (Losartana) e A-779 inibiu o efeito hipertensivo da Ang II e Ang-(1-7), respectivamente, na RVLM por 5, 15 e 30 minutos após a microinjeção da Ang II.

1.5 Exercício Físico e Neuroplasticidade Central

Ichiyama e cols. (2002) mostrou um decréscimo na expressão de c-fos em diferentes áreas cerebrais de ratos treinados em comparação a ratos sedentários após uma sessão de Ex, especialmente no NTS e na RVLM, sugerindo que o treinamento físico pode promover alterações na atividade de células neuronais e áreas bulbares relacionadas ao controle da PA. No entanto, poucos estudos investigaram o papel dos peptídeos angiotensinérgicos e de neurotransmissores na modulação das vias centrais relacionadas aos ajustes cardiovasculares induzidos pelo Ex (BECKER e cols., 2005; MARTINS-PINGE e cols., 2005; MUELLER, 2007b; a; RODRIGUES e cols., 2007).

Martins-Pinge e cols. (2005) investigaram o envolvimento do glutamato e glicina nas respostas cardiovasculares da RVLM após o treinamento de natação em ratos acordados. As respostas pressoras produzidas pelo glutamato e glicina nos ratos submetidos à natação foram atenuadas em relação aos ratos sedentários. Aumentos nas concentrações extracelulares de glutamato na RVLM durante o reflexo pressor do exercício são observados em ratos anestesiados (CARINGI e cols., 1998), isto é um indicativo que grandes quantidades de glutamato podem ser liberados durante o exercício e/ou treinamento. Como bem conhecido, o *downregulation* dos receptores normalmente ocorre após uma interação intensa entre agonista e o seu receptor. Desta forma, o glutamato liberado na RVLM durante o treinamento de natação pode ser responsável pela atenuação

das respostas cardiovasculares. Zha e cols. (2013) mostraram que o Ex em esteira com intensidade de 50-60% da capacidade máxima reduziu a PA e atividade simpática, bloqueou o efeito pressor do glutamato na RVLM, reduziu a concentração de glutamato e a expressão da proteína transportadora vesicular de glutamato (GLUT₂) na RVLM de ratos SHR, sugerindo que o Ex em esteira de baixa intensidade induz neuroplasticidade em neurônios da RVLM de ratos SHR.

Mueller (2007b) mostrou que ratos treinados em esteira apresentavam menor atividade nervosa simpática lombar (ANSL) após a microinjeção bilateral de bicuculina (antagonista do GABA_A) na RVLM em comparação aos ratos sedentários. A ativação da RVLM com microinjeção unilateral de glutamato aumentou a ANSL em ratos sedentários, no entanto nos ratos treinados observou-se uma atenuação da ANSL. Esses resultados sugerem que o treinamento físico pode reduzir o aumento da ANSL devido à diminuição da ativação de neurônios na RVLM.

A microinjeção de Ang II e Ang-(1-7) na RVLM de ratos normotensos sedentários produziu resposta pressora similar entre si (SASAKI e DAMPNEY, 1990; AVERILL e cols., 1994; AVERILL e DIZ, 2000; SANTOS e cols., 2000; ALZAMORA e cols., 2002; BECKER e cols., 2005). Becker e cols. (2005) mostraram que o Ex promoveu um aumento na resposta pressora induzida pela microinjeção de Ang II na RVLM, e em contraste, atenuou a resposta pressora produzida pela Ang-(1-7). Esses autores sugerem que as diferentes respostas dos peptídeos do SRA na RVLM após o treinamento físico pode estar relacionada a diferentes mudanças nas concentrações endógenas desses peptídeos. Dessa forma, o treinamento físico poderia reduzir os níveis endógenos de Ang II e aumentar o de Ang-(1-7). A redução dos níveis endógenos de Ang II induziria um *upregulation* dos receptores de AT1 (receptores de Ang II) e um *downregulation* dos receptores de Ang-(1-7). Kar e cols. (2010) mostraram em cérebro de coelhos com insuficiência cardíaca crônica (ICC) um *upregulation* da ECA e um *downregulation* da ECA2. No entanto, o Ex em esteira de baixa intensidade normalizou a expressão de ambas as ECA e ECA2. Esses dados sugerem que o Ex de baixa intensidade em coelhos com ICC ativa o eixo Ang-(1-7) do SRA cerebral o que poderia normalizar a ECA/ Ang II/ AT1 e ECA2/ Ang-(1-7) / Mas, regulando o balanço entre Ang II e Ang-(1-7) e a atividade simpática. Agarwal e cols. (2011) mostraram em ratos SHR que o Ex em esteira de moderada intensidade (60% da máxima capacidade) por 16 semanas foi eficiente em melhorar o balanço entre citocinas pro e anti-inflamatórias e induzir uma *upregulating* na expressão da citocina anti-inflamatória interleucina-10 (IL-10) no PVN e na RVLM. Esses dados em conjunto sugerem que o Ex de baixa a moderada intensidade induz neuroplasticidade em neurônios de áreas centrais responsáveis pelo controle da PA e atividade simpática, como, por exemplo, a RVLM.

Estudos mostram que o óxido nítrico (NO) tem um importante papel tônico em áreas cerebrais (CVLM e RVLM) responsáveis pelo controle da PA e atividade simpática (ISHIDE

e cols., 2003; ALLY e cols., 2006; ALLY e cols., 2007; ALLY e MAHER, 2008; AGARWAL e cols., 2011; SHINOHARA e cols., 2012; MATSUKAWA e cols., 2013). Agarwal e cols. (2011) mostraram que a expressão da subunidade da NADPH oxidase, gp91phox, foi menor nos ratos submetidos ao Ex em esteria de moderada intensidade, ocorrendo uma redução de 59% no PVN e 77% na RVLM comparado aos ratos SHR Sed. Além disso, o Ex induziu uma redução de cinco e oito vezes da expressão de iNOS no PVN e RVLM, respectivamente. Nesse sentido, parece que o Ex de moderada intensidade tem capacidade de reduzir o estresse oxidativo em áreas cerebrais responsáveis pelo controle da PA e da atividade simpática de ratos com HA.

Diante de todas as evidências aqui mencionadas o presente estudo tem como hipótese de que os ratos 2R1C apresentam menor aptidão aeróbica em relação aos ratos Sham e que, além disso, o Ex aeróbico restaura a reatividade neuronal da RVLM em ratos com hipertensão renovascular 2R1C.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Determinar o limiar de lactato e avaliar o efeito da natação sobre a PA e FC, bem como a reatividade neuronal da RVLM aos peptídeos Ang-(1-7) e Ang II em ratos com hipertensão renovascular 2R1C.

2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar a PAM, FC, pressão arterial sistólica (PAS) e pressão arterial diastólica (PAD) de forma indireta no desenvolvimento da hipertensão renovascular 2R1C e Sham em ratos submetidos à natação e sedentários;
- Determinar o tempo em que ocorre o pico da hiperlactacidemia e hiperglicemia após teste supramáximo na natação em ratos com hipertensão renovascular 2R1C;
- Identificar o LL e limiar glicêmico (LG), através do TLM e TGM, na natação em ratos com hipertensão renovascular 2R1C;
- Analisar se a carga do limiar de lactato e glicêmico correspondem à carga da MFEL no exercício de natação em ratos com hipertensão renovascular 2R1C;
- Verificar o efeito da natação sobre parâmetros cardiovasculares e metabólitos em ratos com hipertensão renovascular 2R1C;
- Avaliar a reatividade neuronal da RVLM aos peptídeos angiotensinérgicos, Ang-(1-7) e Ang II, e seus antagonistas específicos em ratos 2R1C e Sham sedentários e submetidos à natação.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Animais

Foram utilizados neste estudo ratos Fischer, com aproximadamente 9 a 11 semanas de vida, pesando entre 150 e 200g, provenientes do Laboratório de Nutrição Experimental da Escola de Nutrição da Universidade Federal de Ouro Preto. Os animais foram alojados em caixas de plástico, quatro animais por caixa, com livre acesso a água e ração comercial para roedores. Mantidos em ambiente com ciclo claro/ escuro de 12 h, em uma temperatura média de 21° C e umidade relativa do ar de \pm 55%. Todos os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Ouro Preto (Protocolo nº 022/2007).

3.2 Cirurgia para o Desenvolvimento da Hipertensão Renovascular

Para produção da hipertensão renovascular foi utilizado o método descrito por Goldblatt e cols. (1934) denominado 2 rins, 1 clipe (2R1C).

Após jejum de aproximadamente 8 horas, com livre acesso a água e sob anestesia produzida pela mistura de quetamina e xilazina (80 e 10 mg/ kg, respectivamente, IP), os animais (150-200g) foram colocados em decúbito dorsal em uma prancha cirúrgica e submetidos à tricotomia e assepsia da região abdominal com álcool iodado 2%. Em seguida foi realizada uma incisão mediana de 4 a 6 cm abaixo do processo xifóide, sendo colocados refratores bilateralmente na incisão cirúrgica, as alças intestinais foram retraídas e, em seguida, a artéria renal esquerda foi isolada com o auxílio de pinças e cotonetes. Um clipe de prata 950 (contendo 5% de liga de cobre e com ótimo grau de dureza), apresentando 8 mm de comprimento e 2 mm de largura, em forma de U, cuja abertura foi previamente fixada através do uso de um calibrador, foi colocado ao redor da artéria renal. O grau de constrição do clipe escolhido foi de 0,20 mm de diâmetro interno, diâmetro este que se mostrou mais eficiente para obtenção do valor de PA > 130 mmHg (nível de pressão arterial escolhida para selecionar os animais hipertensos).

Outro grupo de animais foi submetido a uma cirurgia fictícia (Sham), que consistiu na realização de todos os procedimentos acima, exceto a colocação do clipe de prata em torno da artéria renal. Os animais Sham foram utilizados como controle (normotensos).

Posteriormente, o abdômen dos animais foi suturado com pontos contínuos envolvendo a camada muscular e a pele. Ao final dos procedimentos cirúrgicos, em todos

os animais, foi administrado 0,02 mL de pentabiótico veterinário (4.800 U.I. das penicilinas/ Kg e 2 mg/ Kg de Estreptomicina e Diidroestreptomicina, IM). Após os testes de exercícios físicos e as avaliações cardiovasculares, os animais foram eutanasiados por decapitação, os rins foram removidos e pesados para avaliação do grau de estenose obtido pela implantação do clipe de prata na artéria renal esquerda.

3.3 Natação

Após quatro dias da cirurgia, os ratos 2R1C ou Sham, com livre acesso à água e comida, foram separados em dois grupos: ratos sedentários (Sed) e ratos submetidos ao exercício físico forçado natação (Ex). O exercício físico e o protocolo de exposição ao meio líquido (ratos Sed) foram realizados cinco vezes por semana, por um período de quatro semanas.

O grupo Sed foi colocado em balde coletivo (quatro ratos por balde) com água rasa (± 15 cm de altura, na temperatura de $31\pm 2^\circ\text{C}$), para que o mesmo fosse semelhante manipulado e exposto às condições de estresse dos ratos exercitados. Na primeira sessão de exposição à água rasa, os ratos Sed permaneciam no balde por 20 minutos, na segunda sessão 40 minutos, já a partir da terceira sessão os animais ficavam expostos à água rasa por 60 minutos até completarem quatro semanas. As sessões de Ex foram realizadas em um tanque de 80 x 120 x 60cm (A x C x L) que continha tubos de PVC com 40cm de diâmetro e 80 cm de altura, nesses tubos os ratos nadavam individualmente. A temperatura da água foi mantida em $31\pm 2^\circ\text{C}$, com a água sendo monitorada a cada 10 minutos por um termômetro. O exercício físico foi realizado sem qualquer adição de carga. A primeira sessão de exercício físico teve a duração de 20 minutos, a segunda de 40 minutos e a partir da terceira sessão os animais nadavam por 60 minutos até completar as quatro semanas de treinamento.

3.4 Dosagens Sanguíneas do Lactato e da Glicose

Para as dosagens sanguíneas de lactato e glicose foi feito um pequeno corte na parte mais distal da cauda dos animais (Sham e 2R1C – Sed e Ex), realizada uma manobra de ordenha na mesma e coletado 25 μl de sangue. O sangue era coletado com um tudo capilar heparinizado e, em seguida, o sangue era depositado em um tudo de eppendorf contendo 50 μl de fluoreto de sódio a 1%. Todas as amostras sanguíneas foram estocadas a -80°C para futuras dosagens. Nas coletas realizadas durante a natação a cauda do rato era

completamente seca com papel toalha antes da retirada do sangue. O tempo total gasto para a coleta sanguínea foi entre 30 e 40 segundos.

3.5 Teste de Indução a Hiperlactacidemia e Hiperglicemia

Com o objetivo de se determinar em ratos com hipertensão renovascular 2R1C a [LA] e [Glic] após um teste de exaustão, ratos 2R1C e Sham foram submetidos a um teste de exaustão. O teste consistia em saltar durante 6 minutos (30 segundos de saltos por 30 segundos de intervalo) sustentando uma carga de 35% da massa corporal do rato. Os saltos foram realizados em um tubo cilíndrico (30 cm de diâmetro x 80 cm de altura) com água a 30 cm de altura para induzir os ratos a saltarem. Após os saltos, os animais permaneciam em repouso e amostras de sangue foram coletadas do 6º ao 20º minutos, a cada 2 minutos. Com o intuito de adaptação dos animais ao teste de hiperlactacidemia e hiperglicemia foram realizados dois testes com um intervalo de 48 horas. As amostras sanguíneas foram coletadas somente no segundo teste.

3.6 Teste do Lactato Mínimo e da Glicose Mínima

O protocolo adotado no presente estudo foi adaptado da metodologia descrita por Voltarelli e cols. (2002) para identificação do LL. O lactato mínimo e a glicose mínima foram determinados a partir da tangente zero grau a uma função "SPLINE" ajustada à curva da [LA] e [Glic] em relação à carga de trabalho.

Foram utilizados diferentes grupos de ratos para a realização do teste de hiperlactacidemia/ hiperglicemia e determinação do lactato mínimo/ glicose mínima. Para a realização do teste do LL, os animais (Sham ou 2R1C) após o teste de exaustão repousaram por 14 minutos (Sham) e 16 minutos (2R1C) para a primeira coleta sanguínea, tempo determinado através do teste de exaustão. Logo após, iniciou-se o teste de cargas crescentes de trabalho (TLM e TGM). Para tal, o tubo cilíndrico (40cm de diâmetro x 80cm de altura) continha água a 70cm de altura, os animais iniciaram o teste com a carga de 1% da massa corporal, sendo acrescida 0,5% da massa corporal a cada três minutos, até a exaustão ou 5% da massa corporal do rato. A cada troca de carga foi coletada uma amostra de sangue (25µl). A exaustão foi definida como a incapacidade do rato subir a superfície, mantendo-se submerso por 10 segundos. A temperatura da água foi mantida a $31\pm 2^{\circ}\text{C}$ com auxílio de um termômetro. Com o intuito de adaptação dos animais ao TLM TGM foram realizados dois testes com um intervalo de 48 horas. As amostras sanguíneas foram coletadas somente no segundo teste.

3.7 Teste para Determinação da Máxima Fase Estável do Lactato Sanguíneo

Outro grupo de animais foi submetido ao teste da MFEL para verificar se ocorria estabilização da [LA] na carga correspondente ao LL, determinada no TLM. Sendo assim, os ratos (Sham ou 2R1C) realizaram três sessões de natação com duração de 25 minutos. A ordem de execução das três sessões de testes foi randomizada, com intervalo de 48 horas. A intensidade da sessão era correspondente à carga do limiar do LL e mais duas cargas supralimiais (0,5 % e 1 % da massa corporal acima da carga correspondente ao LL). As amostras sanguíneas foram coletadas no repouso e a cada cinco minutos de Ex. O tubo cilíndrico (40cm de diâmetro x 80cm de altura) foi mantido com água a 70cm de altura com temperatura da mesma a $31\pm 2^{\circ}\text{C}$ com auxílio de um termômetro.

3.8 Confeção de Cânulas Vasculares

Cânulas foram confeccionadas a partir de 4 cm (arterial) ou 2 cm (venosa) de tubos de polietileno (PE) 10, polimerizados por aquecimento a 17 cm de tubos de PE 50. O interior das cânulas foi preenchido com solução salina (NaCl, 0,9%) e a extremidade livre do PE 50 foi fechada com um oclisor metálico, antes das canulações.

3.9 Procedimentos Cirúrgicos para Avaliações Cardiovasculares

3.9.1 Anestesia

Todos os procedimentos cirúrgicos e avaliações cardiovasculares diretas foram realizados com os ratos anestesiados com uretana (1,2 g/ kg, IP) após 34 dias da cirurgia de 2R1C ou Sham. O monitoramento do efeito do anestésico durante todo período experimental foi realizado utilizando-se uma pinça cirúrgica, através da estimulação por pressão em uma das patas traseiras do rato. Caso fosse evidenciado algum reflexo de retirada da pata, uma dose complementar de uretana era administrada (0,4 mL/ evento).

3.9.2 Traqueostomia

Os animais foram colocados em uma mesa cirúrgica em decúbito dorsal e submetidos a uma incisão mediana na região cervical anterior. A musculatura foi

divulsionada e a traqueia exposta. Em seguida, com a finalidade de manter as vias aéreas patentes, uma cânula de PE 90 foi introduzida e amarrada à traqueia com fio cirúrgico.

3.9.3 Canulação e Isolamento de Artéria e Veia Femorais

Para registro dos parâmetros cardiovasculares e administração de drogas a artéria e veia femoral foram canuladas. Através de uma pequena incisão na pele, e posterior separação da musculatura para localização do feixe vaso-nervoso femoral, as cânulas, previamente heparinizadas, foram introduzidas na aorta abdominal, via artéria femoral, para registro direto da pressão arterial pulsátil (PAP), PAM, e FC, e na veia cava inferior, através da veia femoral, para administração complementar de uretana se necessário. A seguir, as cânulas foram amarradas com fio cirúrgico junto ao feixe vaso-nervoso femoral.

3.10 Registro da PAM e FC

A PAP foi monitorada por um transdutor de pressão modelo Gould, conectado a um amplificador (ML221 Bridge Amp, ADInstruments), a partir da canulação da artéria femoral dos ratos. O amplificador foi conectado a um sistema de conversão analógico/ digital de 16 bits (Powerlab 4/ 30 ADInstruments). O sinal da PAP foi continuamente amostrado a uma frequência de 400 Hz e armazenado em disco rígido (PC). A amplitude do range foi previamente definida em 20 mV. Os registros da PAM e da FC foram derivados da PAP e processados por um software (Lab Chart 7, ADInstruments) para se obter as características temporais e as alterações máximas dos parâmetros desejados. Essas variáveis foram apresentadas simultaneamente em canais distintos no monitor e armazenadas no PC.

3.11 Exposição do Bulbo para Realização de Microinjeções na RVLM

Após a realização dos procedimentos cirúrgicos relacionados anteriormente, os animais foram colocados em decúbito ventral em um aparelho estereotáxico (David Kopf, modelo DKI 900). A cabeça do animal foi fixada com uma inclinação de aproximadamente 45° (-11 mm) com o auxílio das barras auriculares e da peça bucal do aparelho. Em seguida, realizou-se uma incisão mediana na região cervical posterior, separando-se a musculatura. A seguir, foi realizada uma craniotomia occipital, seccionando-se a membrana atlanto-occipital e as meninges (dura-máter e aracnoide) para exposição da superfície dorsal do tronco cerebral.

3.12 Procedimentos de Microinjeções no Bulbo Ventrolateral Rostral

As microinjeções foram feitas através de uma micropipeta de vidro (30-50 µm, diâmetro interno), devidamente fixada ao micromanipulador do estereotáxico. As microinjeções foram realizadas pela pressão de ar exercida por uma seringa de plástico conectada a extremidade distal da micropipeta. Para controlar os efeitos de volume e/ ou pressão exercida pela microinjeção de peptídeos e antagonistas angiotensinérgicos, o mesmo volume (100 nL) de veículo (NaCl, 0.9%) foi microinjetado. Os peptídeos e antagonistas angiotensinérgicos foram microinjetados na RVLM tendo o óbex como ponto de referência anteroposterior e latero-lateral, de acordo com as coordenadas 2,1 mm rostral e 1,8 mm lateral ao óbex; a profundidade foi determinada no momento em que a micropipeta tocou a superfície ventral do bulbo, sob a pia-máter.

A introdução da micropipeta na RVLM causava aumento transiente da PAM, o que servia como forma adicional de confirmar o correto posicionamento da micropipeta. Alguns animais que não apresentaram esses efeitos foram descartados.

3.13 Verificação histológica da localização das microinjeções na RVLM

Ao término dos experimentos os animais foram sacrificados por decapitação. Em necropsia, o cérebro foi coletado e armazenado em um recipiente com formalina (10%). Para avaliação histológica da localização das microinjeções, o cérebro foi lavado em água corrente para retirada do excesso de formalina e embebido em solução criopreservadora comercial de Tissue Tek® (Sakura), sendo posteriormente congelado (-26° C). Secções criopreservadas do cérebro com aproximadamente 50 µm de espessura foram obtidas por corte em criostato (Leica CM 1850). As secções criopreservadas foram dispostas em lâminas de vidro previamente gelatinizadas e, após secagem por 24 horas, coradas pela técnica de coloração histológica de vermelho congo. A confirmação da localização do sítio das microinjeções nos cortes histológicos foi realizada em microscopia ótica, avaliando-se o local da lesão provocada pela micropipeta, tendo como referência os diagramas do Atlas de Paxinos e Watson (1986). Cortes mais representativos em cada grupo de estudo foram selecionados e fotografados em lupa (Leica MZ6). A figura 02 apresenta diagrama de corte frontal do bulbo, obtidos do atlas de Paxinos e Watson (1986), ilustrando a localização das microinjeções na RVLM determinadas pela lesão provocada pela micropipeta de vidro. As análises dos cortes histológicos dos animais desse estudo mostraram que as microinjeções na RVLM estavam localizadas respectivamente na porção ventral do núcleo reticular lateral, ao nível de -11,8 mm a -12,3 mm, posterior ao bregma.

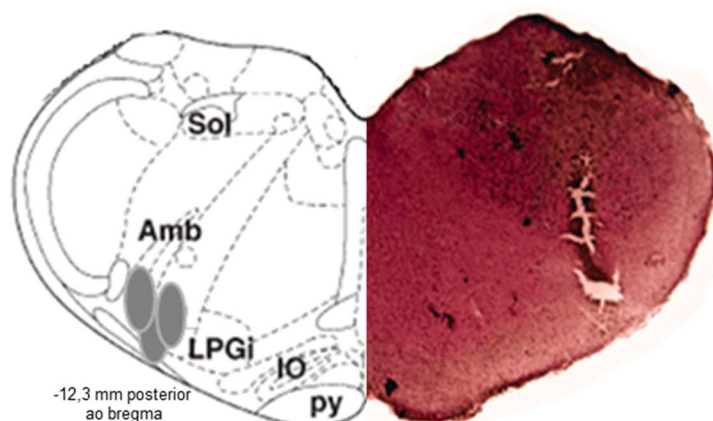


Figura 02: À direita, fotografia de um corte transversal do bulbo corado com vermelho congo, ilustrando o centro da microinjeção na RVLM de um animal. À esquerda, diagrama do corte transversal do bulbo extraído do Atlas de Paxinos e Watson (1986), mostrando a localização do centro de todas as microinjeções na RVLM. A área marcada (em cinza) à esquerda mostra a localização das microinjeções. Sol: núcleo do trato solitário; Amb: núcleo ambíguo; AP: área prostrata; RVL: núcleo ventrolateral rostral; LPGi: núcleo paragigantocelular lateral; XII: núcleo olivar superior; LR: núcleo reticular lateral; IO núcleo olivar inferior; Py: trato piramidal.

3.14 Drogas Utilizadas

3.14.1 Anestésicos:

- Quetamina e Xilazina - Syntec do Brasil, Cotia, Brasil.
- Uretana - Sigma Chemical Co, St. Louis, USA.

3.14.2 Demais Drogas:

- Pentabiótico veterinário - Fort-Dodge, Campinas, Brasil.
- Ang-(1-7) (PM= 898), PD123319 (PM=461) - Sigma Chemical Company- St. Louis, MO, USA.
- Ang II (PM= 1046), Losartana (PM= 732) - Sigma Chemical Company- St. Louis, MO, USA.

3.15 Preparo de Soluções

Os peptídeos e antagonistas foram dissolvidos em solução salina estéril (NaCl, 0,9 %) na concentração de 2mg/ mL e imediatamente aliqüotados em 10 µL em tubos eppendorf e mantidos a -20°C (solução estoque). No dia do experimento, a solução final de uso foi preparada a partir da solução estoque pela adição de salina estéril em um volume

adequado para se obter a concentração desejada do peptídeo e/ ou do antagonista (concentrações citadas anteriormente). A concentração da Ang II, Ang-(1-7) e dos seus respectivos antagonistas utilizados nesse estudo foram escolhidas com base em estudos anteriores (SILVA e cols., 1993; SANTOS e CAMPAGNOLE-SANTOS, 1994; FONTES e cols., 1997; ALZAMORA e cols., 2002).

3.16 Protocolos Experimentais

3.16.1 Efeito da Ang-(1-7) e Ang II, e de seus respectivos antagonistas na RVLM sobre a PAM e FC

Após o início do registro da PAM e FC por cerca de 10 minutos (estabilização), procedia-se a descida da micropipeta de vidro na RVLM. Esperava-se 10 minutos e microinjetava-se Ang-(1-7) (40 pmol) ou Ang II (40 pmol), após 10 minutos microinjetava-se o antagonista angiotensinérgico losartana (86 pmol) ou A-779 (50 pmol). A microinjeção do antagonista angiotensinérgico foi considerada o ponto zero, a partir desse ponto, o tempo foi cronometrado. Após 5, 15 e 30 minutos do ponto zero, microinjetou-se novamente Ang-(1-7) ou Ang II. Dez minutos após a última microinjeção do peptídeo foi microinjetada a salina.

Foram utilizados ratos diferentes para os estudos com a Ang II e Ang-(1-7), sendo que apenas um único antagonista angiotensinérgico (Losartana ou A-779) foi avaliado por vez em cada animal. A figura 03 sumariza este protocolo das microinjeções.

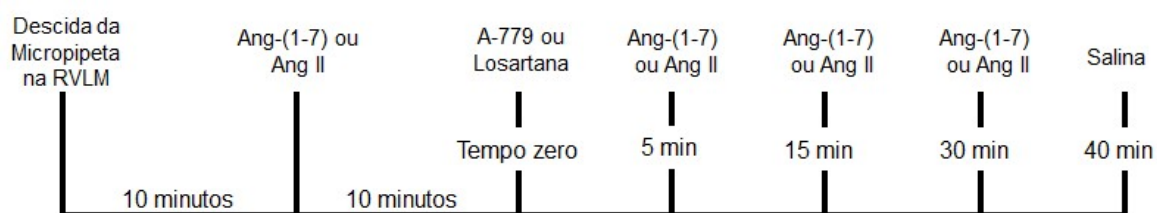


Figura 03: Protocolo experimental para a avaliação dos efeitos cardiovasculares produzidos pela microinjeção na RVLM de Ang-(1-7) e Ang II após a microinjeção de antagonistas angiotensinérgicos A-779 ou losartana em ratos 2R1C e Sham sedentários (Sed) e submetidos ao exercício físico (Ex).

3.17 Análise Estatística

Os resultados foram expressos como médias \pm erro padrão da média (EPM). Para verificação da normalidade dos dados foi aplicado o teste Shapiro-Wilk. Comparações entre diferentes grupos foram realizadas por ANOVA one-way seguido do teste Bonferroni. Para comparações pareadas entre grupos diferentes foi utilizado o teste de ANOVA two-way seguido do teste Bonferroni. As análises foram realizadas no software Graphpad Prism (versão 5.00). Foram consideradas diferenças significativas para $p < 0,05$.

4 RESULTADOS

Para uma melhor apresentação dos resultados, antecedendo aos testes da aptidão aeróbica e as respostas cardiovasculares induzidas pelas microinjeções na RVLM, serão apresentados os resultados de caracterização do modelo de hipertensão 2R1C através das medidas. Posteriormente, serão apresentados os resultados do teste de hiperlactacidemia/hiperglicemia e da aptidão aeróbica através do TLM, TGM e MFEL. Por fim, serão apresentados os efeitos cardiovasculares produzidos pelas microinjeções de Ang-(1-7), Ang II e seus respectivos antagonistas angiotensinérgicos na RVLM.

4.1. Caracterização da Hipertensão Renovascular 2R1C

4.1.1. Avaliação Indireta da PAM, FC, PAD e FC por 4 semanas

Os valores de PAM, FC, PAS e PAD foram medidos por pletismografia digital de cauda por 4 semanas em ratos Sham e 2R1C (Sed e Ex), todos os valores estão apresentados na tabela 01.

Os animais 2R1C Sed apresentaram valores de PAM maiores ($p < 0,05$) em comparação aos valores de PAM dos animais Sham Sed na 2^a, 3^a e 4^a semanas e dos animais 2R1C Ex na 3^a e 4^a semanas (tabela 01). Porém, os animais 2R1C Ex apresentaram valores de PAM semelhante aos animais Sham Sed na 1^a e 3^a semanas após cirurgias (Sham e 2R1C). Durante as quatro semanas de mensuração da PAM não foram observadas diferenças significativas entre os animais Sham Sed e Sham Ex.

A tabela 01 mostra que os animais 2R1C Sed apresentaram valores de FC maiores ($p < 0,05$) em comparação aos animais Sham Sed nas 1^a, 2^a, 3^a e 4^a semanas e nos animais 2R1C Ex na 2^a, 3^a e 4^a semanas. Os animais 2R1C Ex apresentaram valores de FC semelhantes aos animais Sham Sed na 2^a, 3^a e 4^a semanas. Nas quatro semanas de mensuração da FC foram observadas diferenças ($p < 0,05$) entre os animais Sham Sed e Sham Ex apenas na 3^a e 4^a semanas.

Os animais 2R1C Sed e 2R1C Ex apresentaram valores de PAS maiores ($p < 0,05$) em comparação aos animais Sham Sed na 2^a, 3^a e 4^a semanas (tabela 01). Na 3^a e 4^a semanas os animais 2R1C Ex apresentaram valores menores ($p < 0,05$) de PAS em comparação aos animais 2R1C Sed. Nas quatro semanas de mensuração da PAS não foram observadas diferenças ($p < 0,05$) entre os animais Sham Sed e Sham Ex.

Já os animais 2R1C Sed apresentaram valores maiores ($p<0,05$) de PAD em comparação aos animais Sham Sed na 3ª e 4ª semanas (tabela 01). Na 3ª e 4ª semanas os animais 2R1C Ex apresentaram valores menores ($p<0,05$) de PAD em comparação aos animais 2R1C Sed. Nas quatro semanas de mensuração da PAD não foram observadas diferenças ($p<0,05$) entre os animais Sham Sed, Sham Ex e 2R1C Ex.

Tabela 01: Monitoramento semanal dos parâmetros cardiovasculares em ratos normotensos (Sham) e hipertensos (2R1C), sedentários (Sed) e exercitados submetidos ao exercício físico (Ex).

	Sham		2R1C	
	Sed	Ex	Sed	Ex
n	09	09	10	10
Primeira Semana				
Pressão arterial média (mmHg)	123±3	119±3	124±3	119±4
Pressão arterial sistólica (mmHg)	137±3	137±4	143±4	140±5
Pressão arterial diastólica (mmHg)	116±3	110±3	117±3	109±4
Frequência cardíaca (bpm)	421±6	419±6	451±13*	456±11*
Segunda semana				
Pressão arterial média (mmHg)	120±3	128±4	133±4*	134±4*
Pressão arterial sistólica (mmHg)	133±3	144±4	156±4*	159±5*
Pressão arterial diastólica (mmHg)	113±3	120±4	122±4	122±4
Frequência cardíaca (bpm)	424±6	417±6	501±7*	444±10#
Terceira semana				
Pressão arterial média (mmHg)	122±3	117±3	154±4*	130±4#
Pressão arterial sistólica (mmHg)	136±3	134±3	181±4*	153±4**
Pressão arterial diastólica (mmHg)	115±3	108±3	140±48*	119±4#
Frequência cardíaca (bpm)	423±6	399±6*	509±7*	435±8#
Quarta semana				
Pressão arterial média (mmHg)	123±3	119±4	158±4*	135±4**
Pressão arterial sistólica (mmHg)	140±3	137±4	188±4*	163±5**
Pressão arterial diastólica (mmHg)	115±3	109±4	144±3*	121±4#
Frequência cardíaca (bpm)	424±6	396±6*	511±6*	431±7#

Os valores estão expressos como média ± EPM. * $p<0,05$ em comparação aos ratos Sham Sed. # $p<0,05$ em comparação aos ratos 2R1C Sed. (ANOVA one-way seguido pelo teste de Bonferroni).

4.1.2 Avaliação direta dos Níveis Basais da PAM e FC

A figura 04 (painéis **A**, **B** e **C**) ilustra registros típicos da PAP, FC e PAM basais em ratos Sham e 2R1C (Sed e Ex). Os níveis basais da PAM e FC nos animais Sham e 2R1C (Sed e Ex) estão apresentados na figura 05 (painel **A** e **B**) e tabela 02 (ANEXO).

Na figura 05 (painel **A**) e tabela 02 (ANEXO) observa-se que a PAM dos ratos 2R1C Sed e 2R1C Ex foram maiores ($p < 0,05$) em relação à PAM dos ratos Sham Sed. Os ratos 2R1C Ex apresentaram redução significativa ($p < 0,05$) da PAM (mmHg) em comparação aos ratos 2R1C Sed.

A FC dos ratos 2R1C Sed foi maior ($p < 0,05$) em relação aos ratos Sham Sed. Os ratos 2R1C Ex apresentaram redução ($p < 0,05$) da FC em comparação aos ratos 2R1C Sed e similares a FC dos ratos Sham (Figura 05, painel **B** e tabela 02 – ANEXO).

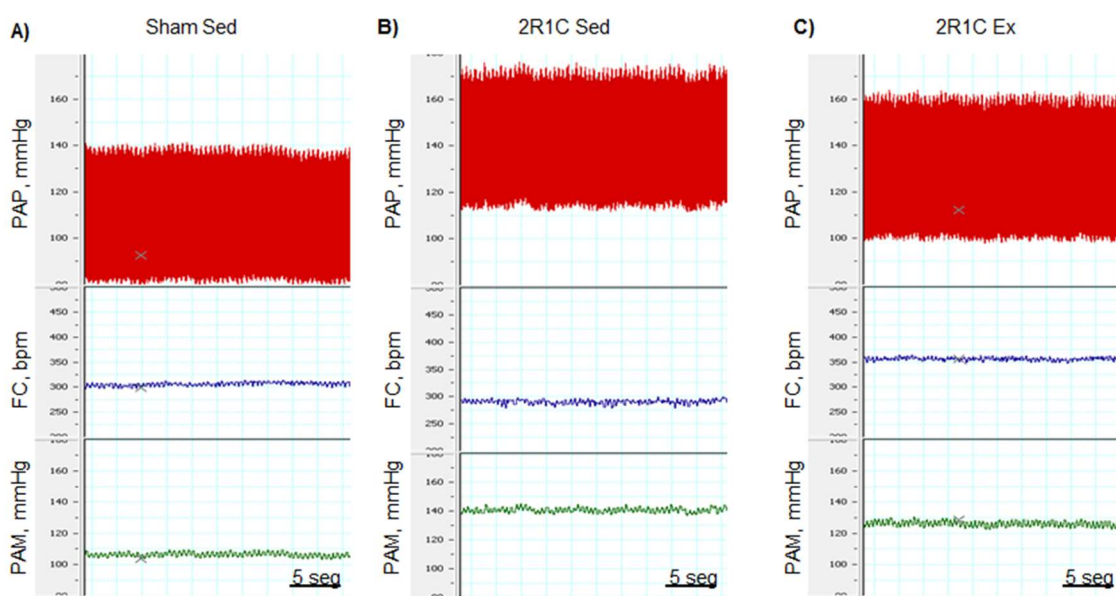


Figura 04: Registros típicos de pressão arterial pulsátil (PAP, mmHg), frequência cardíaca (FC, bpm) e pressão arterial média (PAM, mmHg) de ratos Sham Sed (painel A), 2R1C Sed (painel B) e 2R1C Ex (painel C) anestesiados com uretana (5s=5segundos).

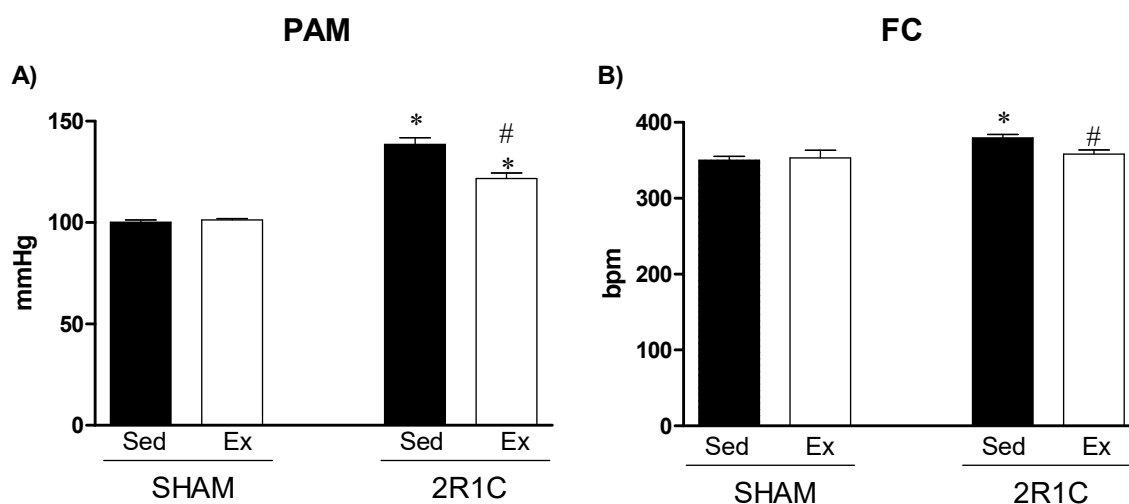


Figura 05: Valores basais de pressão arterial média (PAM, mmHg, painel **A**) e frequência cardíaca (FC, bpm, painel **B**) em ratos Sham sedentários (Sed) (n=26), Sham submetidos ao exercício físico (Ex) (n=36), 2R1C Sed (n=24) e 2R1C Ex (n=34). *p<0,05 em comparação aos ratos Sham Sed. #p<0,05 em comparação aos ratos 2R1C Sed (AVOVA one-way seguido de Bonferroni).

4.1.3 Avaliação da Massa Úmida dos Rins

Com o objetivo de confirmar se a estenose da artéria renal (rim clipado) poderia ser um parâmetro para avaliar a hipertensão renovascular, foi avaliado o peso úmido relativo dos rins em relação à massa corporal dos animais. Os resultados estão apresentados na Figura 06 e tabela 03 (ANEXO).

O peso úmido relativo do rim esquerdo (clipado) dos animais 2R1C (Sed e Ex) foi menor ($p<0,05$) em relação ao peso úmido relativo do respectivo rim direito (não clipado). Já, o peso úmido relativo do rim direito (não clipado) dos animais 2R1C Sed apresentarem valores maiores ($p<0,05$) em relação ao peso úmido relativo do rim direito dos animais Sham (Sed e Ex). Contudo, o peso úmido relativo do rim direito dos animais 2R1C Ex foram similares ao peso úmido relativo do rim direito dos animais Sham (Sed e Ex).

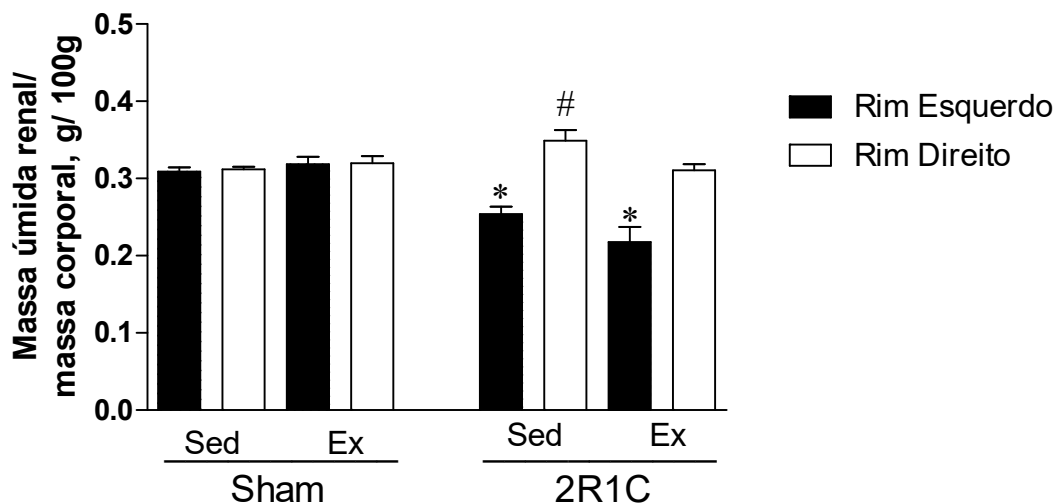


Figura 06: Comparação entre a massa úmida relativa (g/ 100g de massa corporal) do rim esquerdo e rim direito de animais Sham sedentários (Sed) (n=26), Sham submetidos ao exercício físico (Ex) (n=36), 2R1C Sed (n=24) e 2R1C Ex (n=34). *p<0,05 em comparação ao rim esquerdo dos ratos Sham. #p<0,05 em comparação ao rim direito dos ratos Sham Sed e Ex (ANOVA one-way seguida de Bonferroni).

4.1.4 Avaliação da Massa Úmida Cardíaca

Com o objetivo de confirmar se a massa do coração poderia ser também um parâmetro para avaliar a hipertensão renovascular, foi avaliado a massa relativa do coração em relação à massa corporal dos ratos e a massa do ventrículo esquerdo relação à massa corporal dos ratos.

A Figura 07 (painel **A** e **B**) e tabela 04 (ANEXO) mostram que a massa relativa do coração e ventrículo esquerdo dos ratos 2R1C Sed foram maiores (p<0,05) em comparação aos ratos Sham Sed. Os ratos 2R1C Ex apresentaram valores das massas relativas do coração e do ventrículo esquerdo menores (p<0,05) em comparação aos ratos 2R1C Sed e similares as massas relativas do coração e do ventrículo esquerdo dos animais Sham Sed. Não foi observada nenhuma diferença (p<0,05) nas massas relativas do coração e do ventrículo esquerdo entre os animais Sham Sed e Sham Ex.

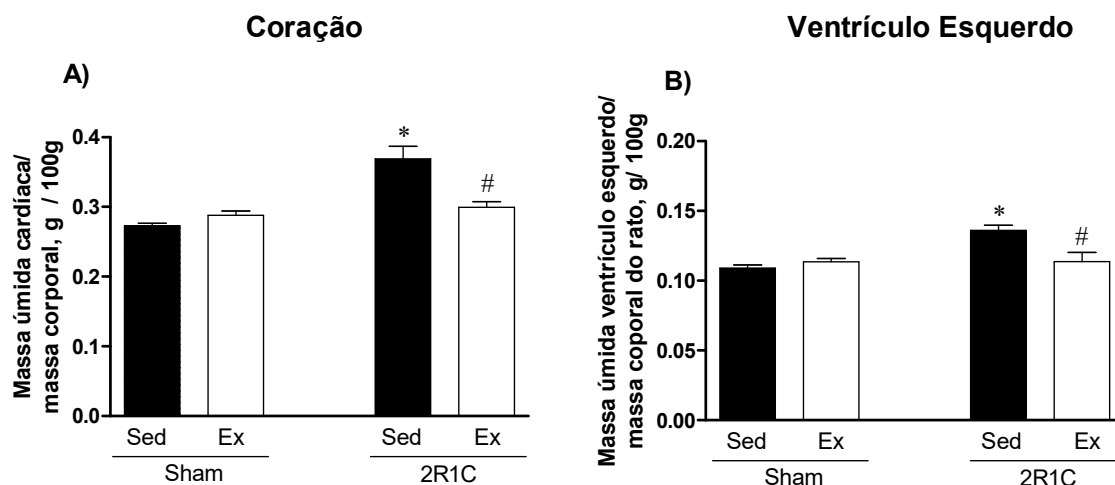


Figura 07: Comparação entre a massa úmida relativa (g/ 100g de massa corporal) cardíaca (painel **A**) e do ventrículo esquerdo (painel **B**) de animais Sham sedentários (Sed) (n=26), Sham exercitados (Ex) (n=36), 2R1C Sed (n=24) e 2R1C Ex (n=34). *p<0,05 comparado com os ratos Sham Sed. #p<0,05 em comparação aos ratos 2R1C Sed (ANOVA one-way seguida de Bonferroni).

4.2. Determinação dos Testes do lactato mínimo e da Glicose Mínima

4.2.1. Lactato Sanguíneo a Glicose Sanguínea após Teste de Exaustão (Teste de Hiperlactacidemia/Hiperglicemia)

Amostras sanguíneas foram coletadas com o objetivo de se determinar em que momento após o teste de exaustão (saltos com 35% da massa corporal do rato), os ratos Sham e 2R1C (Sed e Ex) atingiriam maior valor de lactato sanguíneo (hiperlactacidemia). As coletadas foram realizadas nos ratos a cada dois minutos, a partir do sexto até o vigésimo minuto, logo após o teste de exaustão.

A Figura 08 (painel **A**) e tabela 05 (ANEXO) apresentam os valores da [LA] dos ratos Sham (Sed e Ex). Os ratos Sham Sed e Sham Ex obtiveram o pico de hiperlactacidemia em 14 minutos. Apesar dessa similaridade no momento do pico de hiperlactacidemia apresentado entre os animais Sham (Sed e Ex), os ratos Sham Ex apresentaram valores da [LA] menores em relação aos ratos Sham Sed. A Figura 08 (painel **B**) e tabela 05 (ANEXO) apresentam os valores da [LA] dos ratos 2R1C (Sed e Ex). Os ratos 2R1C Sed e 2R1C Ex obtiveram o pico de hiperlactacidemia em 16 minutos. Além disso, os valores da [LA] entre os ratos 2R1C Sed e 2R1C Ex do 6º ao 20º minuto foram semelhantes.

A Figura 08 (painel **C**) e tabela 06 (ANEXO) apresentam os valores da [Glic] dos ratos Sham (Sed e Ex). Os ratos Sham Sed e Sham Ex obtiveram o pico de hiperglicemia

em 14 minutos. Porém, do 6º ao 20º minuto os ratos Sham Ex apresentaram valores da [Glic] menores em relação aos ratos Sham Sed. A Figura 08 (Painel D) e tabela 06 (ANEXO) apresentam os valores da [Glic] dos ratos 2R1C (Sed e Ex). Os ratos 2R1C Sed obtiveram o pico de hiperglicemia em 16 minutos. No entanto, diferentemente os ratos 2R1C Ex obtiveram o pico de hiperglicemia em 14 minutos. Entretanto, os valores da [Glic] entre os ratos 2R1C Sed e 2R1C Ex do 6º ao 20º minuto foram semelhantes.

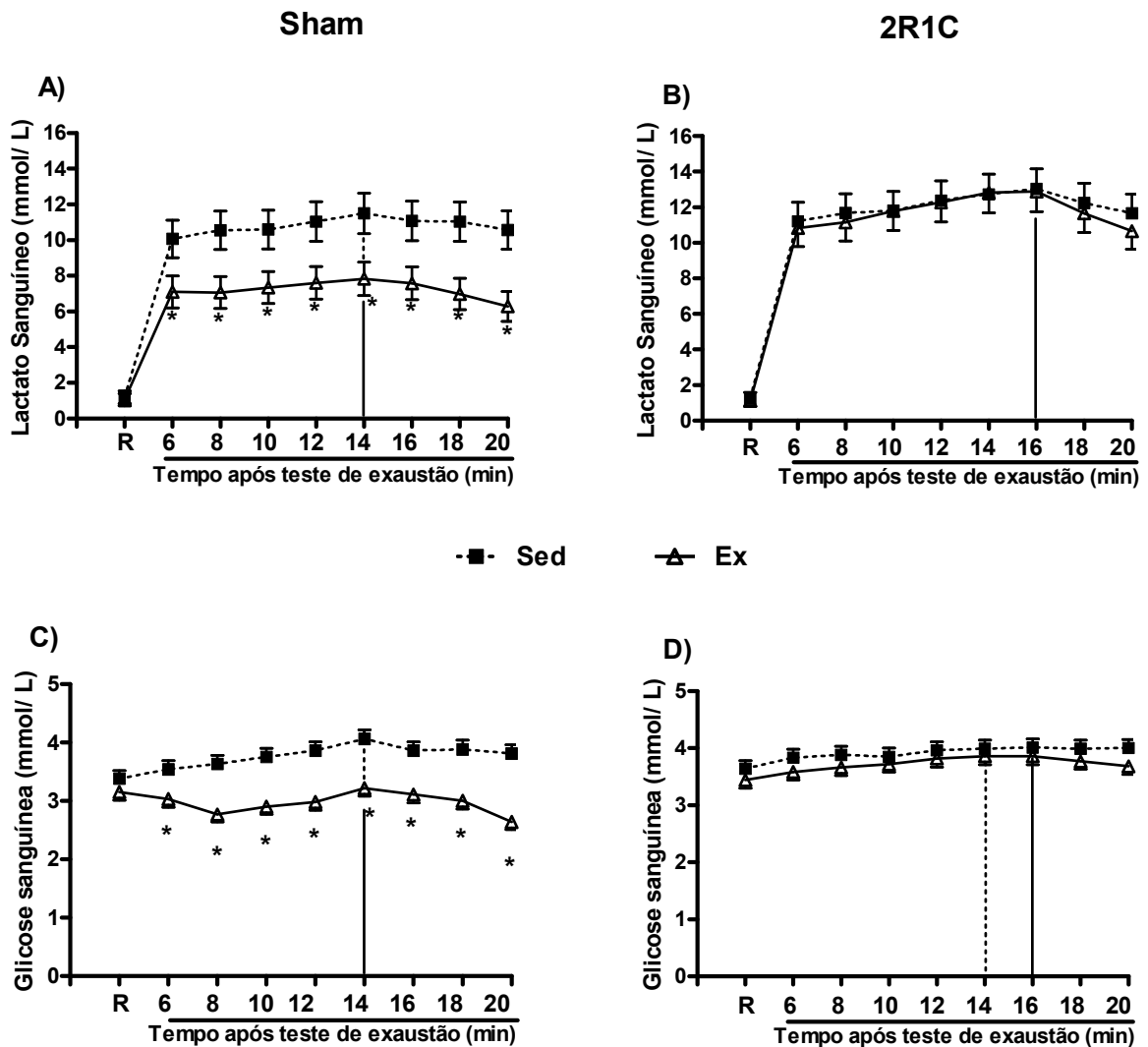


Figura 08: Lactato sanguíneo (mmol/ L, painéis A e B) e glicose sanguínea (mmol/ L, painéis C e D) após o teste de exaustão (saltos com 35% da massa corporal do rato) do sexto ao vigésimo minuto, coletado a cada dois minutos, em ratos Sham Sed (n=09), Sham Ex (n=09), 2R1C Sed (n=10) e 2R1C Ex (n=10). Curva obtida através do ajuste polinomial de 2º grau. *p<0,05 em comparação aos ratos sedentários (ANOVA one-way seguida de Bonferroni).

4.2.2. Identificação dos testes do Lactato Mínimo e da Glicose Mínima

Com o propósito de identificar o LL foi aplicado o TLM e TGM nos ratos Sham e 2R1C (Sed e Ex).

A Figura 09 (painéis **A** e **C**) e tabela 07 (ANEXO) apresentam as médias das [LA] (mmol/L) obtidas no TLM para os ratos Sham (Sed e Ex). Nos ratos Sham Sed o LL ocorreu na carga de 3% da massa corporal do rato. Nos ratos Sham Ex o LL ocorreu na carga de 4% da massa corporal do rato. Os ratos Sham Ex apresentaram valores da [LA] menores ($p < 0,05$) em relação aos ratos Sham Sed na carga de 4%, 4,5% e 5% da massa corporal do rato.

As médias das [LA] (mmol/L) obtidas através no TLM para os ratos 2R1C (Sed e Ex) estão apresentadas na Figura 09 (painéis **B** e **D**) e tabela 07 (ANEXO). Nos ratos 2R1C Sed e 2R1C Ex o LL ocorreu a 2,5% da massa corporal do rato. Contudo, os ratos 2R1C Ex apresentaram valores da [LA] menores ($p < 0,05$) em relação aos ratos 2R1C Sed em todas as cargas avaliadas (1%, 1,5%, 2%, 2,5%, 3%, 3,5%, 4%, 4,5% e 5% da massa corporal do rato). Além disso, na carga de 2,5% da massa corporal dos ratos, a [LA] dos ratos 2R1C Ex foi menor ($p < 0,05$) em relação aos ratos Sham Sed.

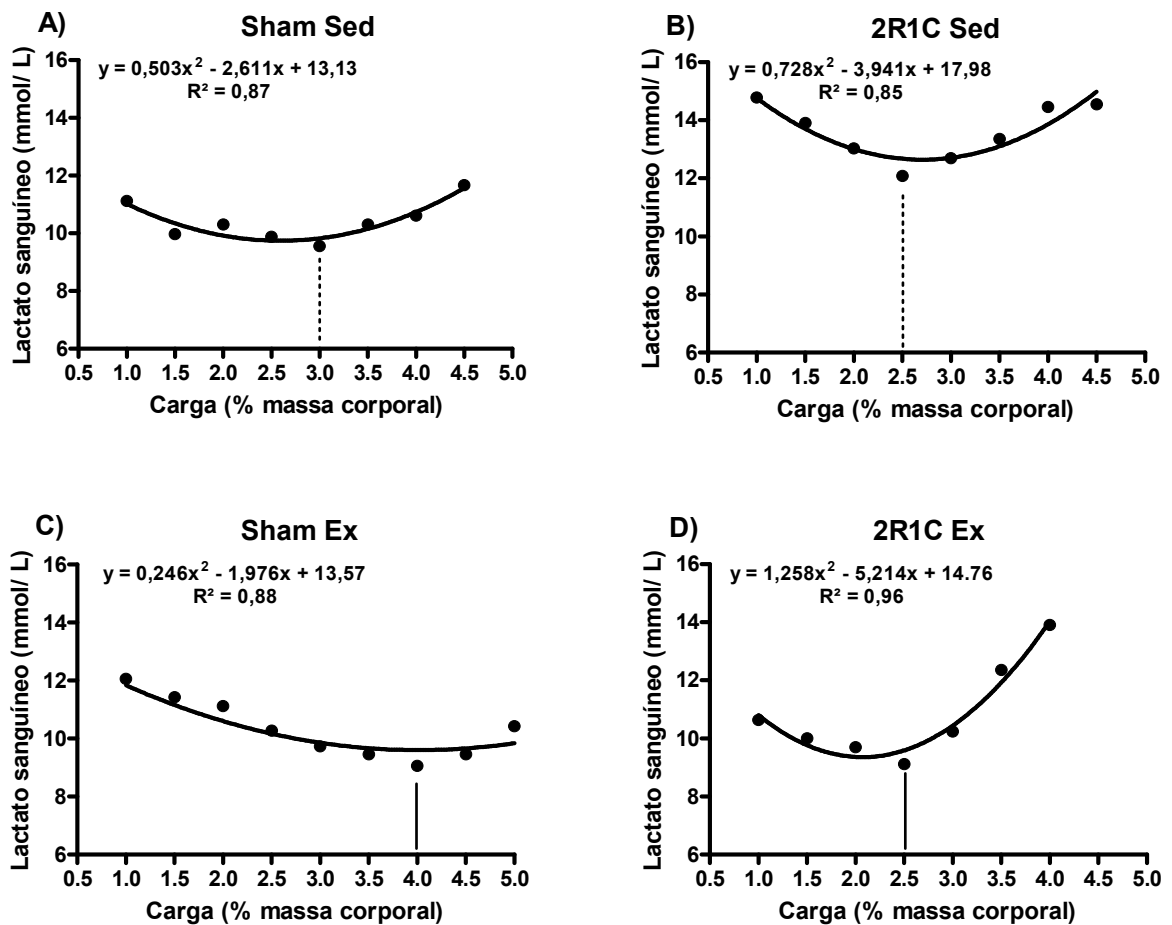


Figura 09: Concentrações de lactato sanguíneo (mmol/ L) de um rato submetido ao exercício físico com cargas crescentes de trabalho durante o teste de lactato mínimo, em ratos Sham Sed (painel **A**, n=11), Sham Ex (painel **C**, n=10), 2R1C Sed (painel **B**, n=09) e 2R1C Ex (painel **D**, n=10). A curva foi obtida por ajuste polinomial de 2º grau.

Com o objetivo de verificar se a resposta da [Glic] no teste incremental é semelhante à resposta da [LA], nas mesmas amostras sanguíneas do lactato também foram dosadas as concentrações de glicose nos ratos Sham e 2R1C (Sed e Ex).

A Figura 10 (painel **A** e **C**) e tabela 08 (ANEXO) apresentam as médias das [Glic] obtidas no TGM em ratos Sham (Sed e Ex). Nos ratos Sham Sed o LG ocorreu na carga de 3% da massa corporal do rato. Nos ratos Sham Ex o LG ocorreu na carga de 4% da massa corporal do rato. O LG ocorreu na mesma carga de trabalho observada no TLM nos ratos Sham Sed e Sham Ex. Os ratos Sham Ex apresentaram valores da [Glic] menores ($p < 0,05$) em relação aos ratos Sham Sed na carga de 4%, 4,5% e 5% da massa corporal.

As [Glic] no TGM para os ratos 2R1C (Sed e Ex) estão apresentadas na figura 10 (painel **B** e **D**) e tabela 08 (ANEXO). Nos ratos 2R1C (Sed e Ex) o LG ocorreu na carga de 2,5% da massa corporal do rato, a mesma carga observada no TLM nos ratos 2R1C Sed e

2R1C Ex. Os ratos 2R1C Ex apresentaram valores da [Glic] maiores ($p < 0,05$) em relação aos ratos 2R1C Sed nas cargas de 1%, 1,5% e 2% da massa corporal do rato. Em relação aos ratos Sham Sed os ratos 2R1C Ex apresentaram maiores ($p < 0,05$) valores da [Glic] em todas as cargas de trabalho (1%, 1,5%, 2%, 2,5%, 3%, 3,5%, 4%, 4,5% e 5% da massa corporal do rato). Os ratos 2R1C Sed apresentaram valores da [Glic] maiores em relação aos ratos Sham Sed nas cargas de 4%, 4,5% e 5% da massa corporal do rato.

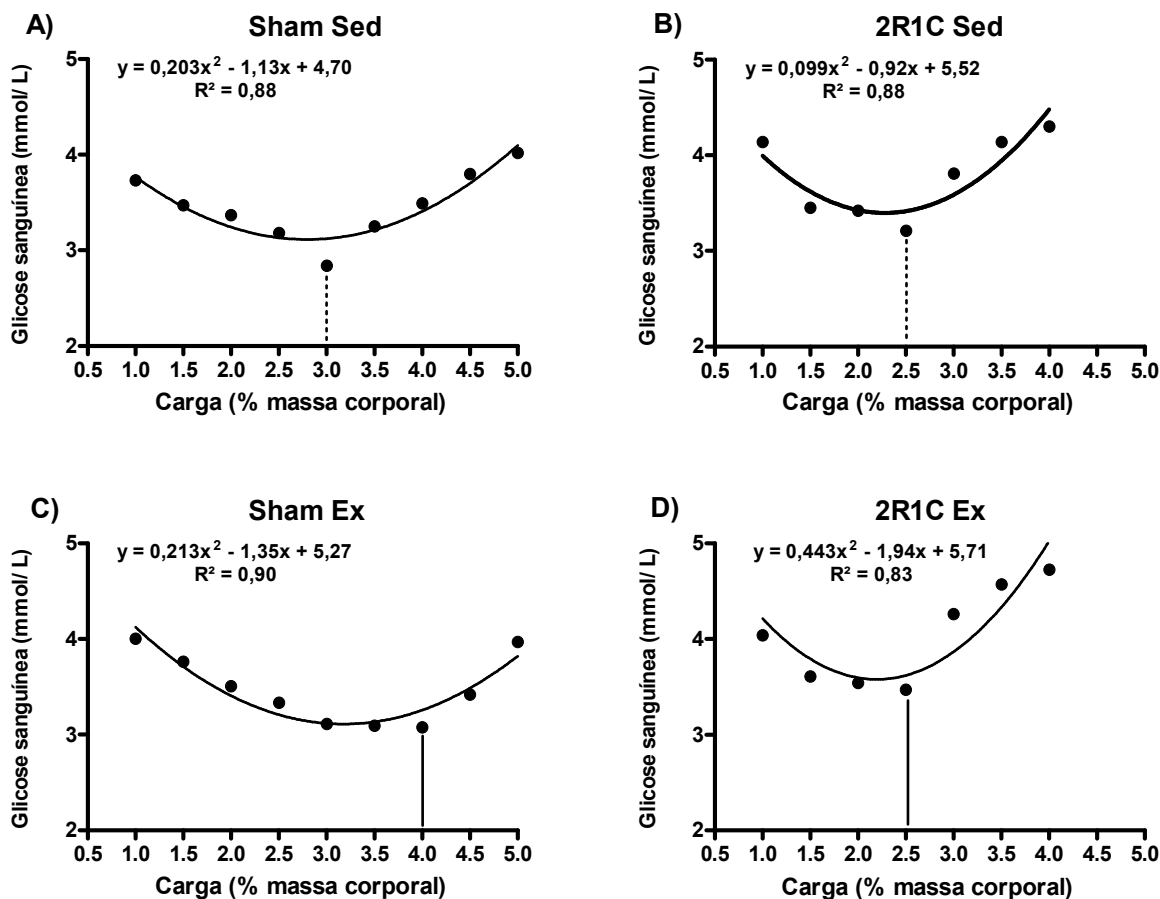


Figura 10: Concentrações de glicose sanguínea (mmol/ L) de um rato submetido ao exercício físico com cargas crescentes de trabalho durante o teste de glicemia mínima, em ratos Sham Sed (painel **A**, $n=11$), Sham Ex (painel **C**, $n=10$), 2R1C Sed (painel **B**, $n=09$) e 2R1C Ex (painel **D**, $n=10$). A curva foi obtida por ajuste polinomial de 2º grau.

4.2.3. Teste para Determinação da Máxima Fase Estável do Lactato Sanguíneo

Com o objetivo de verificar se a carga do TLM tem validade em estimar a maior intensidade de exercício com equilíbrio entre a produção e remoção da [LA] foi aplicado o teste da MFEL.

A Figura 11 (painel **A**) e tabela 09 (ANEXO) apresentam as [LA] na MFEL dos ratos Sham Sed. A carga de 3,0% da massa corporal do rato apresentou estabilização da [LA] a partir do 10º minuto. As demais cargas (3,5% e 4,0% da massa corporal) não apresentaram estabilização da [LA]. Nos ratos Sham Sed a [LA] na carga de 3,5% e 4,0% foram maiores ($p < 0,05$) em relação à [LA] na carga de 3,0% no 20º e 25º minutos e no 5º, 10º, 15º, 20º e 25º minutos, respectivamente.

Os resultados da MFEL dos ratos Sham Ex estão apresentados na Figura 11 (painel **C**) e tabela 09 (ANEXO). A carga de 4,0% da massa corporal do rato apresentou estabilização da [LA] a partir do 5º minuto. As demais cargas (4,5% e 5,0% da massa corporal) não apresentaram estabilização da [LA]. Nos ratos Sham Ex a [LA] na carga de 4,5% e 5,0% foram maiores ($p < 0,05$) em relação à [LA] na carga de 4,0% no 15º, 20º e 25º minutos.

A figura 11 (painel **B**) e tabela 10 (ANEXO) apresentam as [LA] na MFEL dos ratos 2R1C Sed. A carga de 2,5% da massa corporal dos ratos 2R1C Sed apresentou estabilização da [LA] a partir do 10º minuto. As demais cargas (3,0% e 3,5% da massa corporal) não apresentaram estabilização da [LA]. Nos ratos 2R1C Sed a [LA] nas cargas de 3,0% e 3,5% foram maiores ($p < 0,05$) em relação à [LA] na carga de 2,5% no 25º minuto e no 20º e 25º minutos, respectivamente.

Os resultados das [LA] na MFEL dos ratos 2R1C Ex ($n=05$) estão apresentados figura 11 (painel **D**) e tabela 10 (ANEXO). A carga de 2,5% da massa corporal do rato apresentou estabilização da [LA] a partir do 15º minuto. As demais cargas (3,0% e 3,5% da massa corporal) não apresentaram estabilização da [LA]. Nos ratos 2R1C Ex ($n=05$) a [LA] na carga de 3,5% foi maior ($p < 0,05$) em relação à [LA] na carga de 2,5% no 25º minuto.

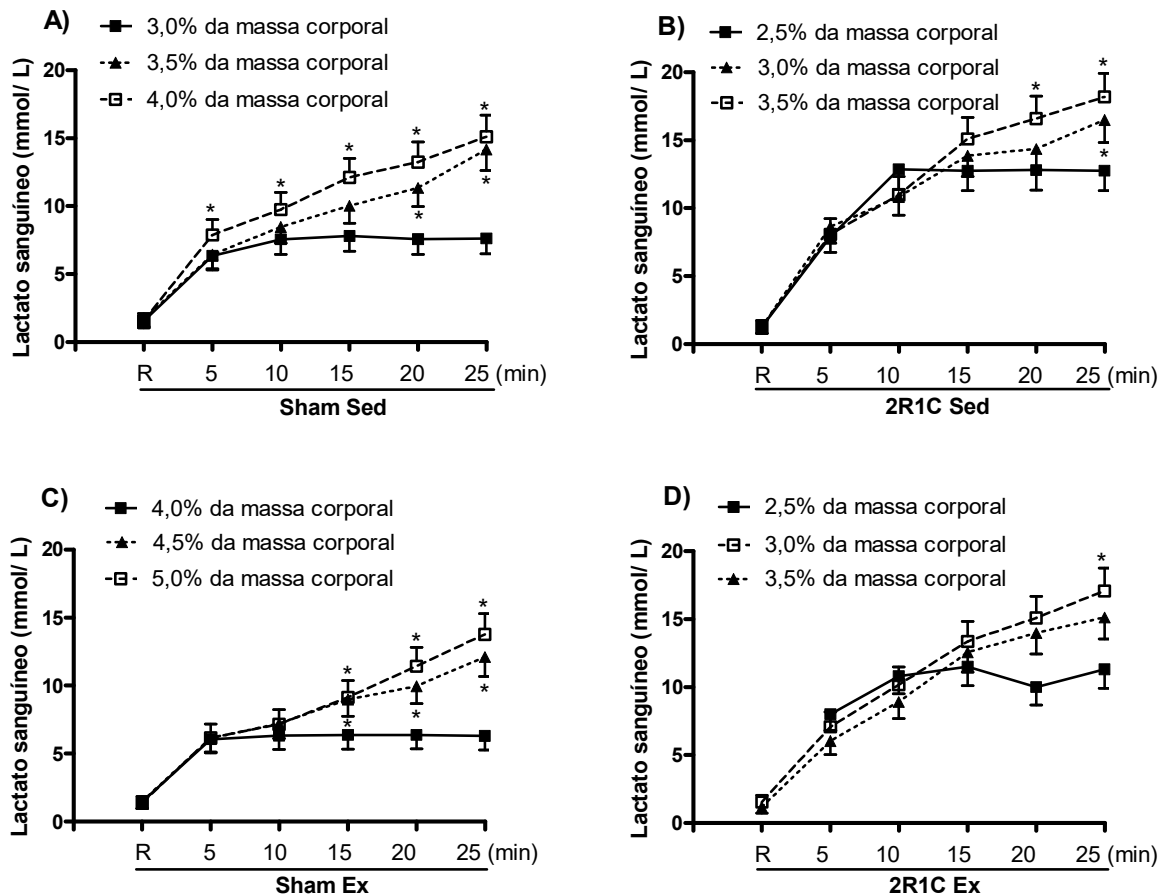


Figura 11: Máxima fase estável do lactato sanguíneo em ratos Sham Sed (n=6) (painel A), Sham Ex (n=6) (painel C), 2R1C Sed (n=05) (painel B) e 2R1C Ex (n=05) (painel D). *p<0,05 em comparação a 3% da massa corporal do rato Sham Sed, 4% da massa corporal do rato Sham Ex e 2,5% da massa corporal dos ratos 2R1C (Sed e Ex) (ANOVA seguida de Bonferroni).

4.4 Efeitos cardiovasculares produzidos pela Ang-(1-7), Ang II e de seus antagonistas na RVLM

4.4.1. Efeito da Ang-(1-7) e Ang II na RVLM sobre a PAM e FC

A figura 12 ilustra os registros típicos das microinjeções na RVLM de Ang-(1-7) e Ang II (figura 12, painel A e B) em ratos Sham Ex e 2R1C Ex.

Os efeitos pressores induzidos pelas microinjeções de Ang-(1-7) (n=5) e Ang II (n=6) na RVLM nos animais Sham Ex (PAM basal= 102±15 mmHg; n=5-6) foram semelhantes entre si e maiores (p>0,05) ao efeito produzido pela microinjeção de salina na RVLM (figuras 12 e 13, painéis A e tabela 11 – ANEXO). Similarmente, nos animais 2R1C Ex (PAM basal= 106±11 mmHg; n=4-5), os efeitos pressores produzidos pelas microinjeções

de Ang-(1-7) e Ang II foram similares entre si e maiores ($p < 0,05$) que o efeito produzido pela microinjeção de salina na RVLM (figura 13, painel **A** e tabela 11 – ANEXO). Não foram observadas alterações significativas ($p > 0,05$) na FC após a microinjeção de Ang-(1-7) e Ang II na RVLM nos grupos de ratos Sham Ex (FC basal= 329 ± 10 bpm; $n=5-6$) e 2R1C Ex (FC basal= 329 ± 19 bpm; $n=4-5$) (figura 13, painel **B** e tabela 12 – ANEXO).

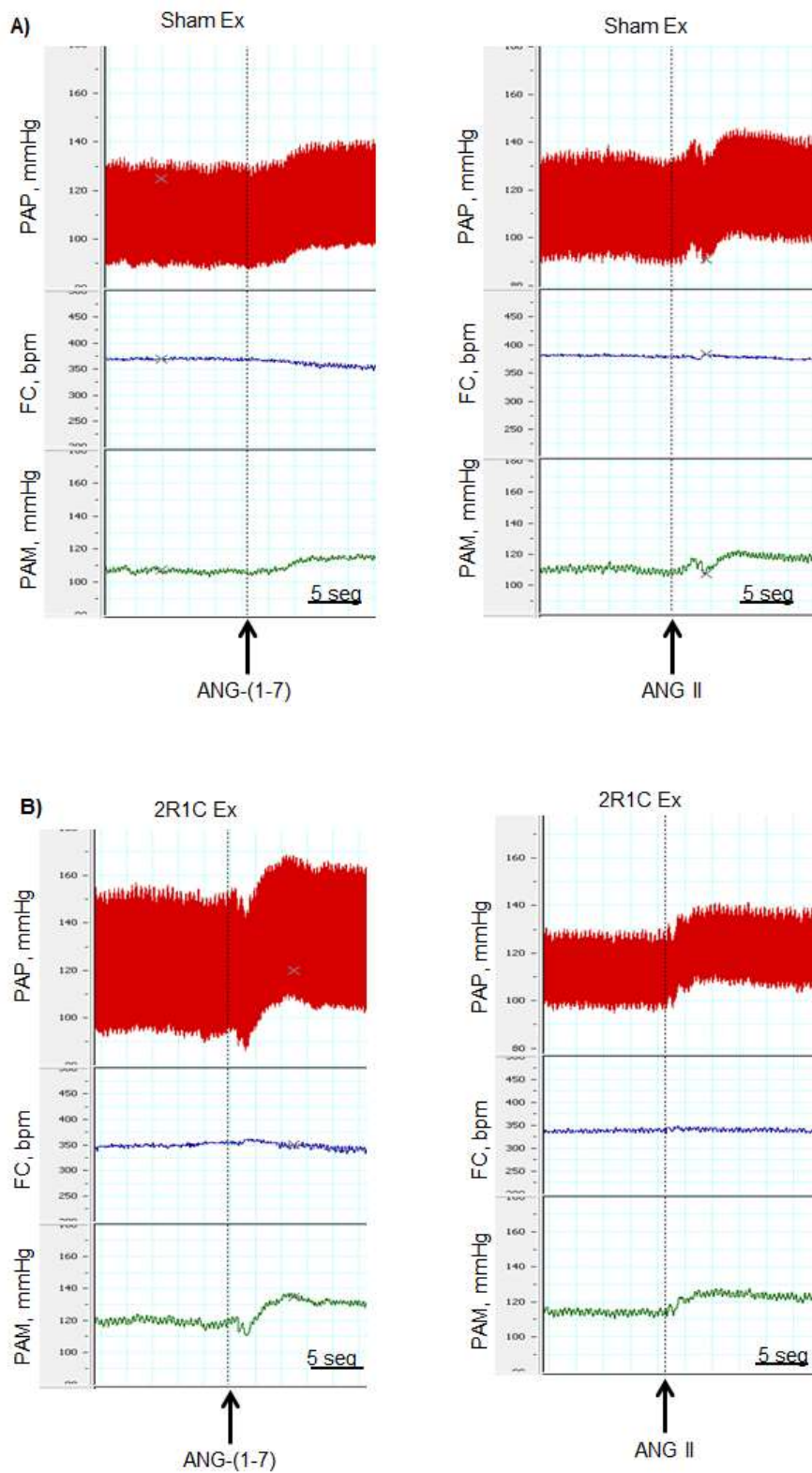


Figura 12: Registros típicos das alterações na pressão arterial pulsátil (PAP, mmHg), frequência cardíaca (FC, bpm) e pressão arterial média (PAM, mmHg) produzidas por microinjeções de Ang-(1-7) (40 pmol) e Ang II (40 pmol) na RVLM de ratos submetidos ao exercício físico (Ex) Sham Ex (painel **A**) e 2R1C Ex (painel **B**). As setas indicam o momento das microinjeções (5s = 5 segundos).

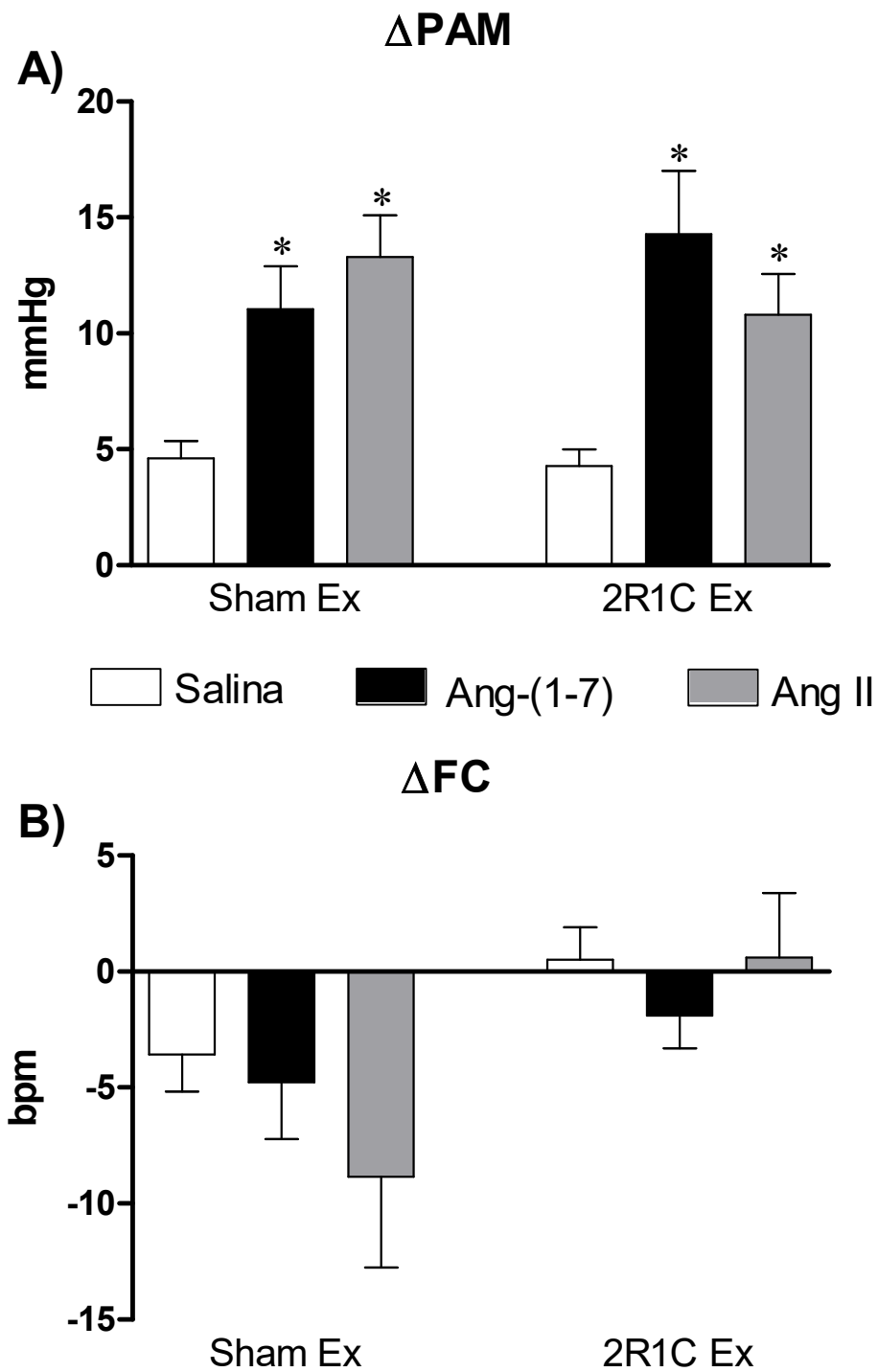


Figura 13: Alterações na pressão arterial média (PAM, mmHg - painel **A**) e frequência cardíaca (FC, bpm - painel **B**) produzidas por microinjeções de salina (100 nL), Ang-(1-7) (40 pmol) e Ang II (40 pmol) na RVLm de ratos submetidos ao exercício físico (Ex) Sham Ex (n=5-6) e 2R1C Ex (n=4-5). *p<0,05 em comparação com a salina (ANOVA two-way seguido de Bonferroni).

4.4.2. Efeito da microinjeção de A-779 e losartana na RVLM sobre a PAM e FC

A figura 14 ilustra os registros típicos das microinjeções na RVLM de A-779 e losartana em ratos Sham Ex e 2R1C Ex (figura 14, painel **A** e **B**).

Nos animais Sham Ex (PAM basal= $99,5 \pm 15,8$ mmHg; n=5-6) não foram observadas diferenças significativas ($p > 0,05$) entre o efeito induzido pela microinjeção do antagonista do receptor Mas (A-779) e antagonista do receptor AT1 (losartana) quando comparados com os efeitos produzidos pela microinjeção de salina (figura 15, painel **A** e tabela 13 – ANEXO). Similarmente, nos animais 2R1C Ex (PAM basal= $98,6 \pm 13,4$ mmHg; n=4-5) não foram observadas diferenças significativas ($p > 0,05$) entre o efeito induzido pela microinjeção do antagonista do receptor Mas (A-779) e antagonista do receptor AT1 (losartana) quando comparados com os efeitos produzidos pela microinjeção de salina (figura 15, painel **A** e tabela 13 – ANEXO). Não foram observadas alterações significativas ($p > 0,05$) na FC após a microinjeção de A-779, losartana ou salina na RVLM nos grupos de ratos Sham Ex (FC basal= $328,9 \pm 14,5$ bpm; n=5-6) e 2R1C Ex (FC basal= $328,5 \pm 21,5$ bpm; n=4-5) (figura 15, painel **B** e tabela 14 – ANEXO).

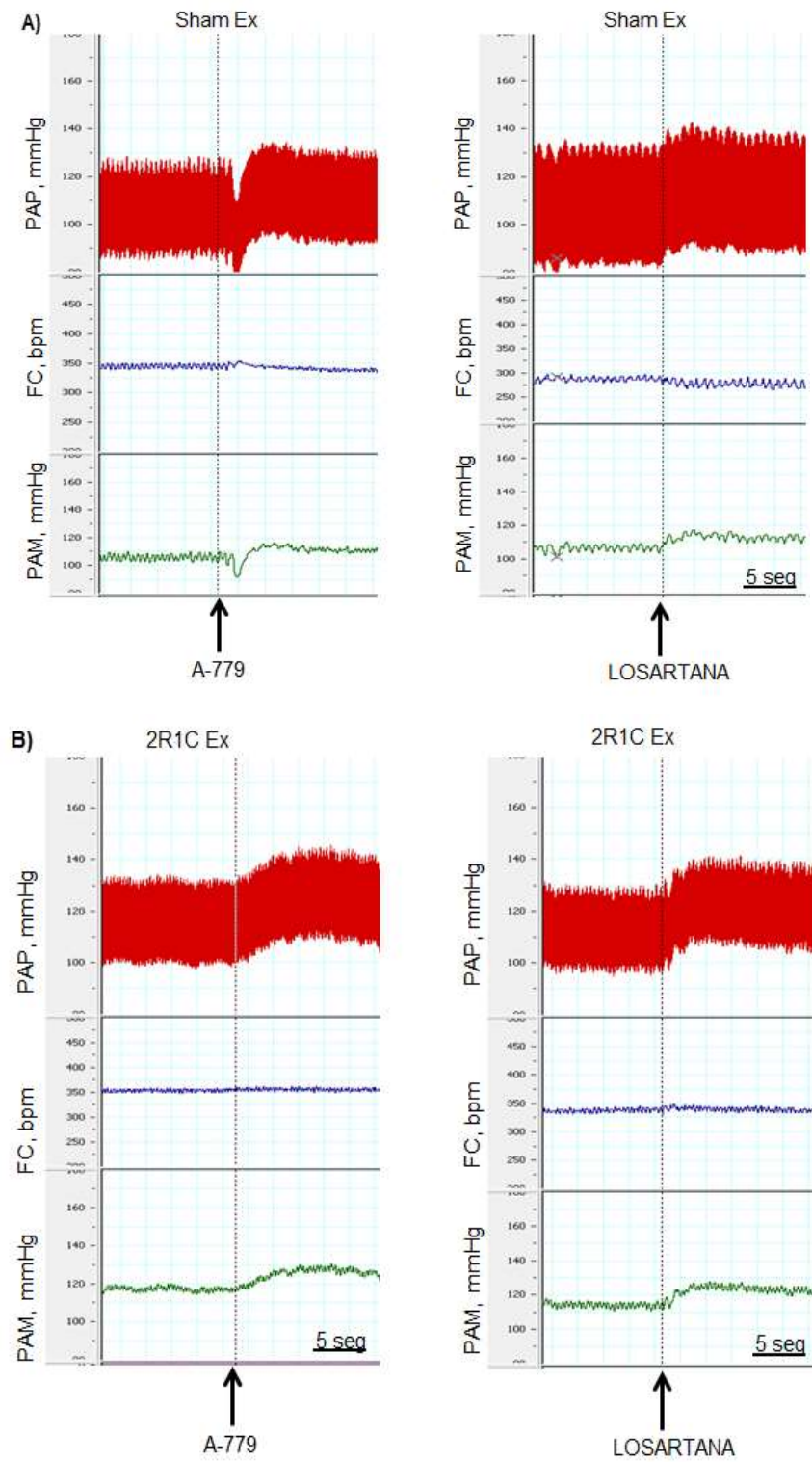


Figura 14: Registros típicos das alterações na pressão arterial pulsátil (PAP, mmHg), frequência cardíaca (FC, bpm) e pressão arterial média (PAM, mmHg) produzidas por microinjeções de A-779 (50 pmol) e losartana (86 pmol) na RVLm de ratos submetidos ao exercício físico (Ex) Sham Ex (painel **A**) e 2R1C Ex (painel **B**). As setas indicam o momento das microinjeções (5s = 5 segundos).

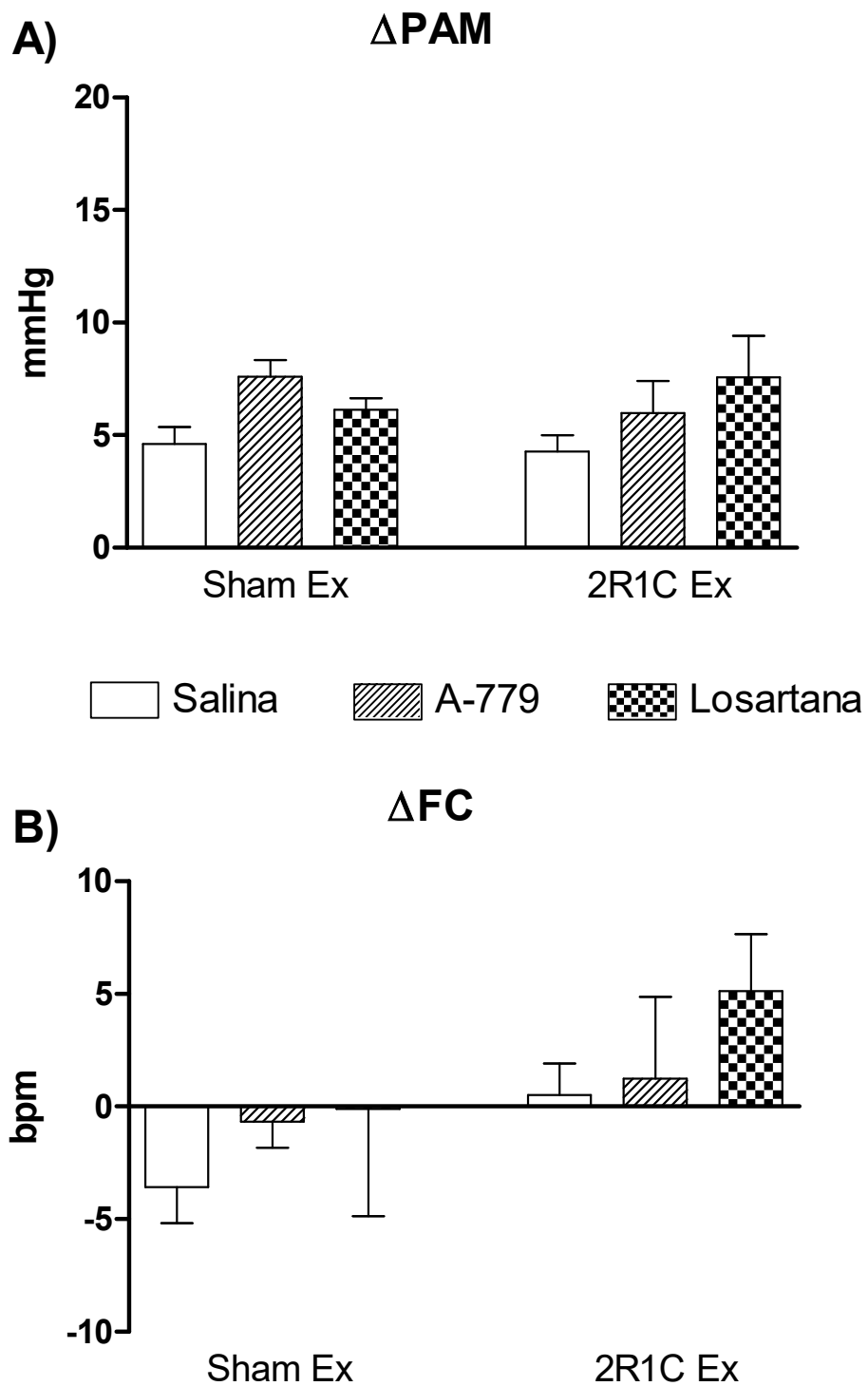


Figura 15: Alterações na pressão arterial média (PAM, mmHg - painel **A**) e frequência cardíaca (FC, bpm - painel **B**) produzidas por microinjeções de salina (100 nL), A-779 (50 pmol) e losartana (86 pmol) na RVLm de ratos submetidos ao exercício físico (Ex) Sham Ex (n=5-6) e 2R1C Ex (n=4-5). *p<0,05 em comparação com a salina (ANOVA two-way seguido de Bonferroni).

4.4.3 Efeito do A-779 na RVLM sobre microinjeções sucessivas de Ang-(1-7)

Com a intenção de verificar se o antagonista do receptor Mas, A-779, promoveria algum bloqueio sobre os efeitos pressores produzidos pelas microinjeções de Ang-(1-7), foi avaliado o efeito das microinjeções sucessivas de Ang-(1-7) na RVLM após 5, 15 e 30 minutos da microinjeção de A-779 (figura 20, painel **A**).

O antagonista A-779 microinjetado na RVLM bloqueou ($p < 0,05$) o efeito pressor induzido pela Ang-(1-7) na RVLM por até 30 minutos tanto nos animais Sham Ex (PAM basal= $97,8 \pm 12,4$ mmHg, $n=6-7$) quanto nos animais 2R1C Ex (PAM basal= $105,4 \pm 12,5$ mmHg, $n=4-5$) (figura 16, painel **A** e tabela 15 – ANEXO). Não foram observadas diferenças significativas ($p > 0,05$) na FC após as microinjeções sucessivas de Ang-(1-7) na RVLM antes e após a microinjeção do A-779 na RVLM dos respectivos animais Sham Ex (FC basal= $330,7 \pm 15,7$ bpm, $n=5-6$) e 2R1C Ex (FC basal= $328,5 \pm 21,5$ bpm, $n=4-5$) (figura 20, painel **B** e tabela 16 – ANEXO).

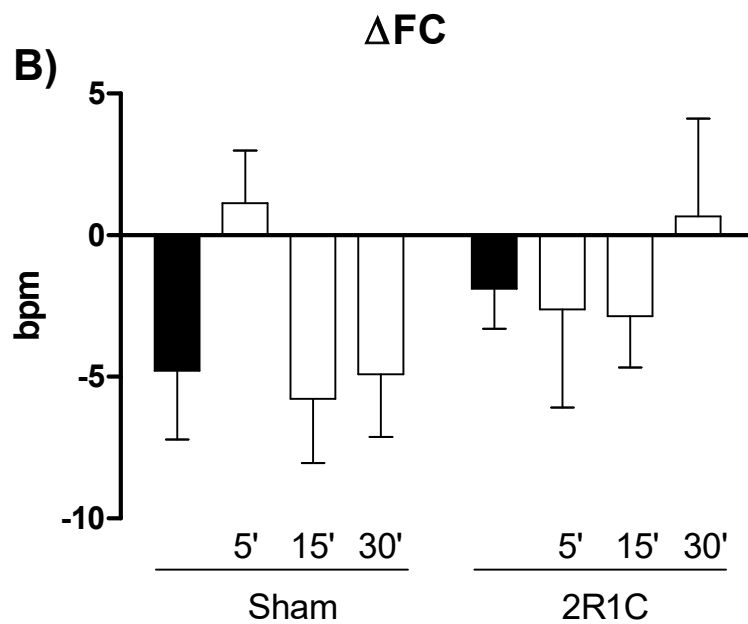
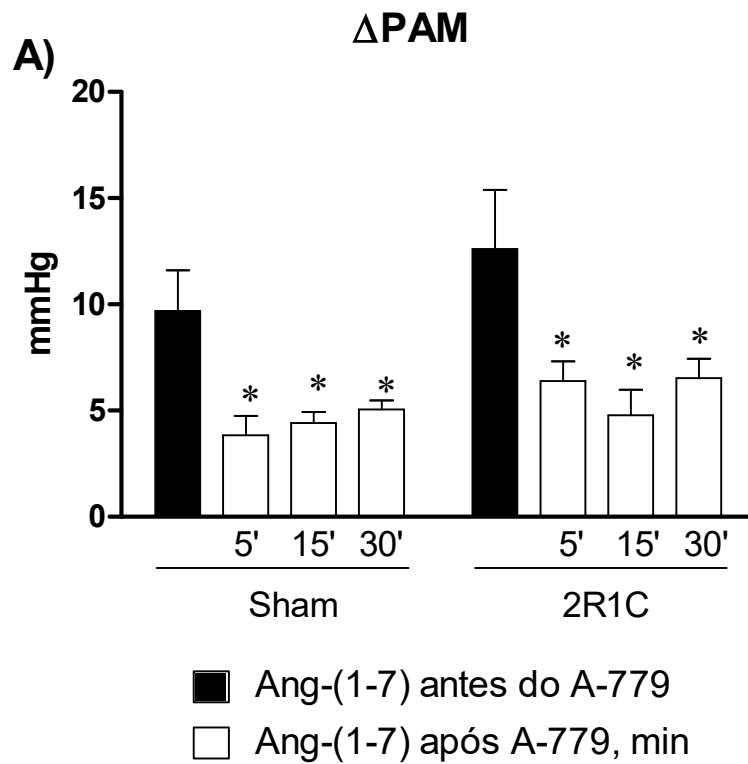


Figura 16: Alterações na pressão arterial média (PAM mmHg, painel **A**) e frequência cardíaca (FC bpm, painel **B**) produzidas pelas microinjeções de Ang-(1-7) (40 pmol) na RVLN antes e após 5, 15, e 30 minutos da microinjeção de A-779 (50 pmol) na RVLN de ratos submetidos ao exercício físico (Ex) Sham Ex (n=5-6) e 2R1C Ex (n=4-5). 5', 15' e 30' = tempo (min) após microinjeção de A-779. *p<0,05 comparado com a microinjeção de Ang-(1-7) antes do A-779 no respectivo grupo (ANOVA two-way seguido de Bonferroni).

4.4.4 Efeito da losartana na RVLM sobre microinjeções sucessivas de Ang II

Com a intenção de verificar se o antagonista do receptor AT1 de Ang II, losartana, promoveria algum bloqueio sobre os efeitos pressores produzidos pelas microinjeções de Ang II, foi avaliado o efeito das microinjeções sucessivas de Ang II na RVLM após 5, 15 e 30 minutos da microinjeção de losartana (figura 21, painel **A**).

O antagonista losartana microinjetado na RVLM bloqueou ($p < 0,05$) o efeito pressor induzido pela Ang II na RVLM por até 30 minutos tanto nos animais Sham Ex (PAM basal = $99,5 \pm 15,4$ mmHg; $n = 5-6$) quanto nos animais 2R1C Ex (PAM basal = $105,4 \pm 12,5$ mmHg; $n = 4-5$) (figura 17, painel **A** e tabela 17 – ANEXO). Não foram observadas alterações significativas ($p > 0,05$) na FC após as microinjeções sucessivas de Ang II na RVLM, antes e após a microinjeção do losartana na RVLM dos respectivos animais Sham Ex (FC basal = $326,3 \pm 14,7$ bpm; $n = 5-6$) e 2R1C Ex (FC basal = $328,5 \pm 21,5$ bpm; $n = 4-5$) (figura 17, painel **B** e tabela 18 – ANEXO).

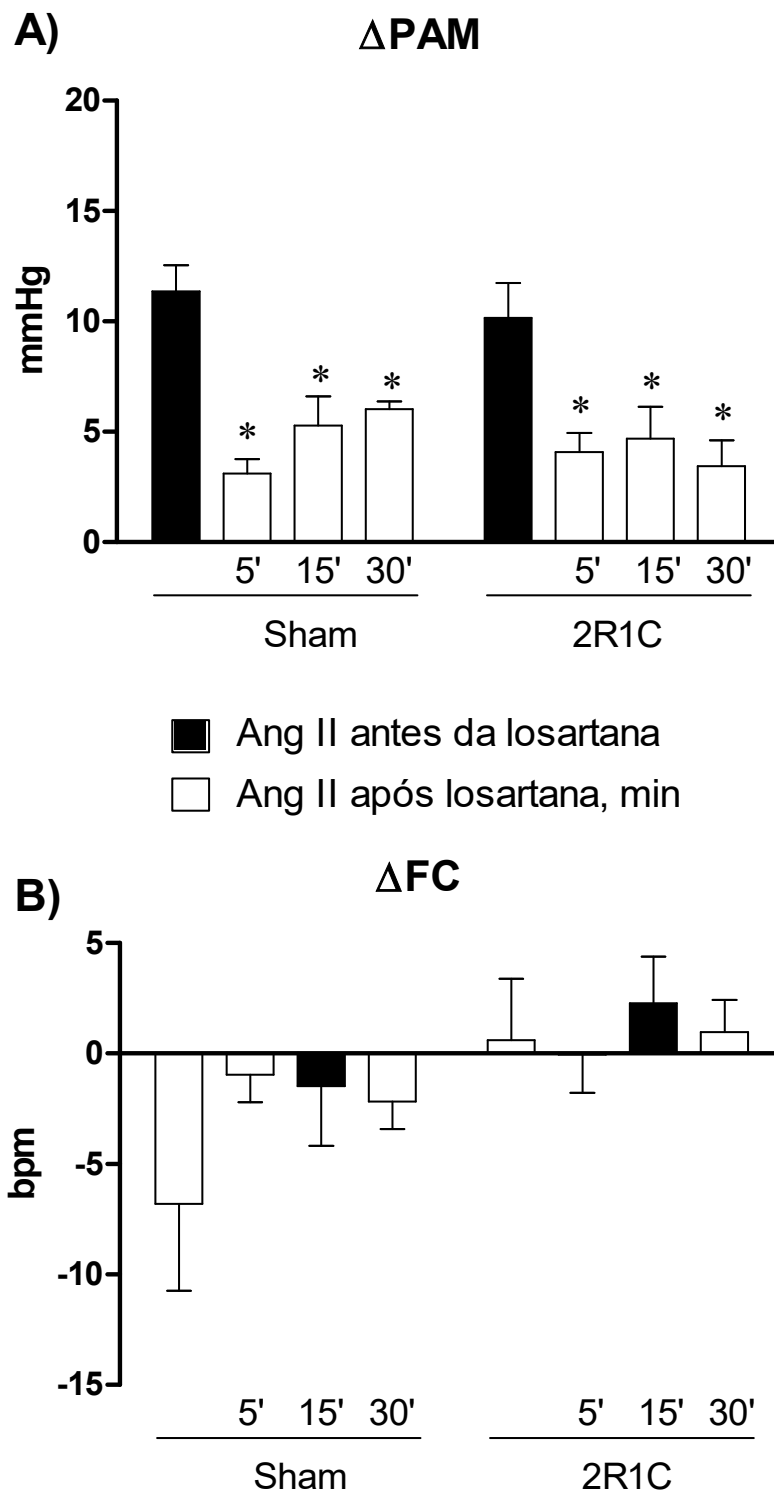


Figura 17: Alterações na pressão arterial média (PAM, mmHg, painel **A**) e frequência cardíaca (FC bpm, painel **B**) produzidas pelas microinjeções de Ang II (40 pmol) na RVLM, antes e após 5, 15, e 30 minutos da microinjeção de losartana (86 pmol) na RVLM de ratos submetidos ao exercício físico (Ex) Sham Ex (n=5-6) e 2R1C Ex (n=4-5). 5', 15' e 30' = tempo (min) após microinjeção de losartana. *P<0,05 em comparação com Ang II antes da losartana (ANOVA two-way seguido de Bonferroni).

5 DISCUSSÃO

Os principais resultados do presente estudo em relação à avaliação da aptidão aeróbica mostraram que os ratos com hipertensão 2R1C apresentaram o pico da hiperlactacidemia e hiperglicemia tardiamente (16 minutos) em comparação aos ratos normotensos Sham (14 minutos), evidenciando um retardo na remoção da [LA] em ratos 2R1C. O teste incremental proposto foi capaz de identificar, tanto em ratos Sham como em 2R1C, o LL e LG, através do TLM e TGM, respectivamente. Além disso, as cargas correspondentes ao LL e LG foram validadas pelo teste da MFEL em animais Sham e 2R1C. O Ex foi eficiente em reduzir a PA e FC e em alterar a reatividade neuronal da RVLM aos peptídeos angiotensinérgicos Ang-(1-7) e Ang II e ao antagonista losartana em ratos com hipertensão 2R1C. Em conjunto, nossos resultados mostraram através dos protocolos propostos do TLM e TGM que ratos com hipertensão 2R1C apresentaram menor aptidão aeróbica em relação aos ratos normotensos. Apesar dos TLM e TGM sugerirem que os ratos com hipertensão 2R1C nadaram com intensidade aeróbica mais alta em comparação aos ratos normotensos, o exercício aeróbico de natação foi eficiente em reduzir a PA e FC em ratos com hipertensão renovascular 2R1C provavelmente por induzir neuroplasticidade na RVLM aos peptídeos angiotensinérgicos.

5.1 Caracterização da Hipertensão Renovascular 2R1C em Ratos Submetidos ao Exercício aeróbico

O monitoramento semanal dos parâmetros cardiovasculares de forma indireta mostrou que os ratos 2R1C Ex apresentaram redução da FC, PAM, PAS e PAD em relação aos ratos 2R1C Sed a partir da segunda semana após a cirurgia de indução da hipertensão renovascular 2R1C. As mensurações diretas mostraram que os ratos 2R1C Ex reduziram a PAM e FC em relação aos ratos e 2R1C Sed e, além disso, a FC dos ratos 2R1C Ex foi semelhante aos ratos Sham (Sed e Ex). Esses dados mostram que o protocolo de natação foi eficiente em promover adaptações cardiovasculares benéficas em animais com hipertensão renovascular 2R1C. Nossos dados estão de acordo com outros estudos da literatura (MARTINS-PINGE e cols., 2005; MUELLER, 2007b) e com dados anteriores de nosso laboratório (RODRIGUES e cols., 2007; SOARES e cols., 2011) que mostraram que o Ex aeróbico reduz a PAM e FC em ratos com hipertensão.

A avaliação da massa úmida do rim mostrou que o rim esquerdo dos ratos 2R1C (Sed e Ex) apresentou redução em relação ao rim esquerdo dos Sham enquanto o rim direito (não clipado) dos ratos 2R1C Sed foi maior em relação ao rim direito dos ratos Sham (Sed e Ex). Esses resultados estão de acordo com as alterações renais impostas pelo modelo de hipertensão renovascular 2R1C adotado no presente estudo (GOLDBLATT e cols., 1934) e com dados anteriores de nosso laboratório (RODRIGUES e cols., 2007; CANGUSSU e cols., 2009; SOARES e cols., 2011; DE CASTRO e cols., 2012). Soares e cols. (2011) mostraram que somente no rim esquerdo (clipado) dos ratos 2R1C (Sed e Ex), e não no rim direito (não clipado) ocorreu aumento no depósito de colágeno comparado ao rim esquerdo dos ratos Sham. Além disso, o Ex de natação sem carga reduziu o processo inflamatório somente no rim direito (não clipado).

No presente estudo as massas úmidas do coração e do ventrículo esquerdo nos ratos 2R1C Sed foram maiores em relação aos ratos Sham (Sed e Ex). Já os ratos 2R1C Ex apresentaram redução nas massas úmidas do coração e do ventrículo esquerdo em relação aos ratos 2R1C Sed que foram similares aos ratos Sham (Sed e Ex), esses dados estão de acordo com estudos anteriores de nosso laboratório (RODRIGUES e cols., 2007; CANGUSSU, 2008; SOARES e cols., 2011; CUNHA e cols., 2013). Os principais estímulos que promovem a hipertrofia cardíaca são a PA e a sobrecarga de volume. O Ex aeróbico está relacionado principalmente a uma sobrecarga de volume que induz a hipertrofia cardíaca excêntrica, predominando o crescimento dos miócitos de forma longitudinal (LORELL e CARABELLO, 2000). Em estudo recente de nosso laboratório (SOARES e cols., 2011) mostramos que Ex de natação sem carga induziu aumento na largura dos miócitos em ratos Sham e 2R1C em relação aos ratos sedentários. Isto é consistente com a hipertrofia excêntrica induzida pelo Ex, o que pode levar a um crescimento proporcional da largura e comprimento do miócito (CLAESSENS e cols., 1999). Dentre os vários mecanismos hemodinâmicos responsáveis pela doença vascular hipertensiva está a compressão arteriolar coronariana pelo ventrículo esquerdo hipertrofiado e mais rígido, o aumento da relação espessura/ lúmen da parede arteriolar e o aumento do diâmetro da câmara do ventrículo esquerdo, refletindo não apenas na hipertrofia dos miócitos, mas também na deposição de colágeno (FROHLICH, 2000). Dados de nosso laboratório (SOARES e cols., 2011) mostram que o Ex de natação sem carga impediu a hipertrofia concêntrica cardíaca, o aumento do diâmetro dos cardiomiócitos, e diminuiu a relação espessura/ lúmen da parede vascular cardíaca em ratos 2R1C. Essas mudanças morfométricas aumentam a eficiência da função cardíaca, podendo explicar parcialmente a redução da PA e FC dos ratos 2R1C Ex (BOISSIERE e cols., 2006; RODRIGUES e cols., 2007; SOARES e cols., 2011).

5.2 Avaliação da Aptidão Aeróbica em Ratos com Hipertensão 2R1C

Estudos em modelo animal simulando diferentes tipos de estresse permitem a aplicação de procedimentos invasivos que não podem ser realizados em humanos. Dessa forma, similarmente ao presente estudo, estudos da literatura (GOBATTO e cols., 2001; VOLTARELLI e cols., 2003; BILLAT e cols., 2005) tem conduzido investigações em ratos submetidos ao exercício físico devido as semelhantes respostas fisiológicas obtidas em relação aquelas observadas em humanos, permitindo um melhor acompanhamento e compreensão da adaptação sistêmica ao Ex. Outro importante aspecto, é que o presente estudo analisou a possibilidade de se avaliar a aptidão aeróbica em ratos hipertensos através de um teste máximo, sendo que a aplicação desse tipo de teste em humanos hipertensos não é recomendada, em virtude dos valores elevados de PA ao final do teste. Dessa forma, pouco se sabe sobre as respostas fisiológicas de humanos hipertensos quando submetidos à avaliação física em testes máximos.

A identificação do LL e LG em ratos hipertensos foi feita através da função polinomial de segundo grau. Além disso, o presente estudo mostrou a possibilidade da estimativa da MFEL a partir de uma única sessão de exercício incremental (LL e LG) em ratos com hipertensão, através da adaptação do protocolo proposto por Voltarelli e cols. (2002) em ratos normotensos. Outros estudos determinaram o LL em ratos normotensos utilizando a esteira rolante (PILIS e cols., 1993; LANGFORT e cols., 1996), entretanto, no presente estudo, utilizamos a natação por ser uma habilidade inata dos ratos. Baseado nos resultados obtidos na cinética da [LA] pós-exercício supramáximo foram escolhidos os tempos de 16 minutos para os ratos Sham e 14 minutos para os ratos 2R1C utilizados na duração do repouso entre o teste supramáximo e o início do teste incremental. Além disso, com base no teste de hiperlactacidemia, reduzimos a carga inicial, o aumento da carga e da duração dos estágios do teste de carga progressiva na natação.

Voltarelli e cols. (2002) utilizando ratos Wistar normotensos sedentários identificaram através do LL, a ocorrência do Lan na carga de $4,95 \pm 0,10\%$ da massa corporal do rato e resposta da [LA] em $7,17 \pm 0,16$ mmol/ L. Em nosso estudo, o LL ocorreu em ratos Sham na carga de $3,0 \pm 0,2\%$ da massa corporal do rato e resposta da [LA] em $9,9 \pm 0,9$ mmol/ L, o que sugere uma diferença metabólica entre estas duas espécies de ratos (Wistar e Fisher). Outros estudos usando ratos Wistar normotensos (GOBATTO e cols., 2001; MANCHADO-GOBATTO e cols., 2006) também identificaram o LL com a carga relativa à massa corporal do rato em valores próximos ao estudo de Voltarelli e cols. (2002), reforçando nossa hipótese de que diferenças metabólicas entre espécies de ratos (Wistar e Fisher) e entre estado de normotensão e hipertensão (KLIMA e cols., 2011; AKANDE e cols., 2013; SAPOZHNIKOVA e cols., 2013; SCHULTZ e cols., 2013) poderia explicar nossos resultados

serem diferentes dos dados da literatura (GOBATTO e cols., 2001; VOLTARELLI e cols., 2002; MANCHADO-GOBATTO e cols., 2006) em relação aos ratos normotensos a explicar nossos resultados em que ratos 2R1C apresentaram LL e LG precocemente em relação aos ratos normotensos. Além disso, dados de nosso laboratório mostraram que ratos 2R1C não suportaram nadar com carga de 5% da massa corporal, diferentemente Gobatto e cols. (2001) mostraram que ratos Wistar treinaram com carga de 8% da massa corporal por nove semanas, esses dados também confirmam as diferenças metabólicas entre espécies de ratos (Wistar e Fisher) e entre estado de normotensão e hipertensão.

Gobatto e cols. (2001) mostraram em ratos Wistar que o teste da MFEL é sensível na identificação das alterações da [LA] induzidas pelo Ex, similarmente ao observado no teste de Lan. Estes autores (GOBATTO e cols., 2001) evidenciaram através da MFEL, que apesar dos ratos Sed e Ex apresentarem a mesma [LA], os ratos Ex suportaram uma maior carga em comparação aos ratos Sed, o mesmo foi observado no presente estudo em ratos Sham. Em relação aos ratos hipertensos, nossos resultados mostram que os ratos 2R1C apresentam a carga do Lan, identificada pelo TLM, inferior em comparação aos ratos Sham. Além disso, a carga da MFEL em ratos Sham e 2R1C ocorreu na mesma intensidade correspondente ao Lan, identificado pelo LL e LG, enquanto que todas as cargas supralimiais avaliadas não apresentaram estabilização da [LA]. Assim, a identificação do Lan, realizada através do LL e LG, foi validada pelo teste da MFEL em ratos Sham e 2R1C (Sed e Ex). Apesar da MFEL ser considerada o método “padrão ouro” (BENEKE e VON DUVILLARD, 1996; MATTERN e cols., 2003) entre os protocolos para a avaliação da [LA] em resposta ao Ex, essa metodologia necessita de longas sessões de Ex em diferentes dias, portanto não é um método simples e nem prático. Diante disso, sugerimos o LL e LG para avaliação da aptidão física e prescrição de Ex em ratos com hipertensão.

Estudos da literatura em seres humanos (SIMOES e cols., 1999; JUNIOR e cols., 2001) mostraram semelhança entre o Lan determinado pela [LA] e [Glic]. Durante o Ex de intensidade leve a moderada, há uma queda da [LA] e [Glic] (BENEKE e cols., 2000). No entanto, no Ex com intensidades supralimiais é aumentada a estimulação simpática causando liberação de adrenalina e glucagon, hormônios capazes de estimular a glicogenólise hepática. A maior atividade da glicogenólise hepática leva a um acréscimo na [LA] e [Glic] (PORT, 1991; WELTMAN e cols., 1994). Junior e cols. (2001) mostraram que o bloqueio beta-adrenérgico com propranolol causou uma redução da intensidade correspondente ao Lan determinado pela [LA] e [Glic] durante o TLM, evidenciando que o padrão similar entre a resposta da [LA] e [Glic] são dependentes da atividade simpática. Nossos dados do presente estudo estão de acordo com Junior e cols. (2001), visto que o teste incremental apresentou um padrão similar entre a resposta da [LA] e [Glic] nos ratos Sham e 2R1C. Além disso, nossos dados mostram em ratos Sham e 2R1C que o teste da MFEL validou a carga do Lan determinada pelo LG, semelhante ao que ocorreu com o LL.

Os resultados da [Glic] mostram grande aplicabilidade prática, pois o LG apresenta menor custo financeiro em relação ao LL na determinação do Lan.

Durante a HA ocorre aumento da atividade simpática e do SRA com consequente aumento da circulação de adrenalina, Ang II e aldosterona (KRIEGER e cols., 1971; CARRETERO e ROMERO, 1977; GUYENET, 2006), e esses agentes hipertensivos podem alterar o metabolismo e/ ou a aptidão aeróbica em humanos (MONTGOMERY e cols., 2002) e de animais (BRAITH e cols., 1999). Em nosso estudo, os ratos 2R1C que apresentam hiperatividade do SRA (GOLDBLATT e cols., 1934) tiveram menor aptidão aeróbica comparada aos ratos Sham. O elevado nível da [LA] observado em ratos 2R1C em todas as cargas do teste incremental pode estar relacionado com uma hiperatividade do SRA. A hiperatividade do SRA leva a um aumento do tônus simpático e, conseqüentemente, da adrenalina, o que resulta na estimulação da glicogenólise hepática e muscular, provocando um aumento da [LA] (PORT, 1991; PLADYS e cols., 2004).

Apesar da HA apresentar outras importantes alterações metabólicas como, por exemplo, maior resistência a insulina (REYNOLDS e cols., 2002; AKANDE e cols., 2013), aumento das espécies reativas de oxigênio (SANTANGELO e cols., 2003; KLIMA e cols., 2011), alterações no metabolismo do carboidrato (RHEAUME e cols., 2003; SAPOZHNIKOVA e cols., 2013), alterações no metabolismo do glicogênio muscular esquelético (RHEAUME e cols., 2003; SCHULTZ e cols., 2013) e maiores [LA] em resposta ao Ex natação (SOARES e cols., 2011), no presente estudo foi possível identificar o LL e LG através do TLM e TGM, respectivamente. Além disso, o TLM e TGM foram sensíveis em identificar as melhoras da aptidão aeróbica e melhoras metabólicas nos ratos Sham e 2R1C submetidos ao Ex natação. Essas alterações metabólicas na hipertensão provavelmente explicam a diferença entre as cargas do LL de ratos e de ratos 2R1C.

Como já mencionado, o Ex aeróbico natação reduziu a PAM e FC de ratos 2R1C em relação aos ratos 2R1C Sed. Além disso, o protocolo proposto do TLM e TGM foi eficiente em identificar a melhoria na aptidão aeróbia dos ratos Sham e 2R1C (Sed e Ex) e essa melhoria foi acompanhada dos benefícios cardiovasculares induzidos pelo Ex como redução dos níveis basais de PA, FC e redução das massas cardíaca e ventricular esquerda. Além disso, nossos dados do LL e LG sugerem que o Ex aeróbico de natação foi de maior intensidade para os ratos 2R1C e que, apesar disso, o Ex induziu adaptações metabólicas e cardiovasculares benéficas em ratos 2R1C. No entanto, ainda é carente o conhecimento sobre as adaptações impostas pelo Ex aeróbico natação em áreas específicas do SNC responsáveis pelo controle da PA de ratos com hipertensão renovascular 2R1C.

Nesse sentido, o presente estudo buscou avaliar os efeitos induzidos pelos peptídeos do SRA, Ang-(1-7) e Ang II, e seus respectivos antagonistas, microinjetados na RVLM que é uma importante área do controle central da PA e que apresenta hiperatividade

neuronal relacionada ao aumento da atividade simpática (ZHOU e cols., 2010; ZHA e cols., 2013) e da PA de repouso em animais hipertensos (OLIVEIRA-SALES e cols., 2010; DU e cols., 2013; ZHA e cols., 2013).

5.3 Microinjeção dos Peptídeos Angiotensinérgicos na RVLM em ratos 2R1C

Ex

A manutenção da PA em condições normais ocorre principalmente através do balanço entre a clássica via pró-vasoconstritora, pró-fibrótica e proliferativa do SRA envolvendo o eixo ECA/ Ang II/ receptor AT1 e da recém descoberta via pró-vasodilatadora, antifibrótica e antiproliferativa envolvendo o eixo ECA2/ Ang-(1-7)/ receptor Mas (SANTOS e cols., 1994; SANTOS e cols., 2003; DANILCZYK e PENNINGER, 2006; SANTOS e FERREIRA, 2007; SANTOS e cols., 2008; XU e cols., 2011). Tem sido considerado que ocorre um desequilíbrio dos componentes do SRA tanto em áreas centrais como periféricamente em diferentes patologias como na HA. Na HA ocorre aumento na ativação do eixo ECA/ Ang II/ receptor AT1 (HU e cols., 2002; AGARWAL e cols., 2011; CHEN e cols., 2011) e uma redução na ativação do eixo ECA2/ Ang-(1-7)/ receptor Mas (AGARWAL e cols., 2011). Apesar desse entendimento, estudos são necessários para um melhor conhecimento da contribuição do desequilíbrio entre os componentes do SRA na RVLM para o desenvolvimento e estabelecimento da hipertensão renovascular 2R1C. Os dados do presente estudo sugerem que o desequilíbrio entre os componentes do SRA na RVLM é restaurado quando os animais com hipertensão 2R1C são submetidos ao Ex de natação. Em adição, na HA tem sido descrito um desequilíbrio na atividade neuronal entre as áreas pressora (RVLM) e depressora (CVLM) localizadas no VLM (HEESCH, 1999; SVED e cols., 2000; CARVALHO e cols., 2003). Parte deste desequilíbrio pode ser devido a uma inabilidade dos neurônios da CVLM em contrabalancear o aumento da atividade intrínseca dos neurônios da RVLM que ocorre em animais hipertensos (SVED e cols., 2000; CARVALHO e cols., 2003; PINHO e cols., 2006).

Estudos têm mostrado que o Ex induz importantes alterações no SRA em humanos e animais com doenças cardiovasculares. Alguns estudos mostraram que o Ex reduz os níveis plasmáticos de Ang II (BRAITH e cols., 1999; GOMES-FILHO e cols., 2008; MOUSA e cols., 2008), reduz a expressão de ECA e do receptor AT1 no PVN e RVLM de ratos SHR (AGARWAL e cols., 2011), aumento da expressão de ECA2 (AGARWAL e cols., 2011) e do receptor Mas no PVN, RVLM (AGARWAL e cols., 2011) e aorta de ratos SHR (SILVA e cols., 2011), aumento dos níveis de Ang-(1-7) (GOMES-FILHO e cols., 2008) e da expressão do receptor Mas no ventrículo esquerdo de ratos SHR, sem, contudo, modificar os níveis plasmáticos de Ang-(1-7) nesses animais (GOMES-FILHO e cols., 2008). Estudos

têm sugerido que os benefícios cardiovasculares induzidos pelo Ex em humanos e animais hipertensos ocorrem também via alterações no controle neural da circulação. Alguns estudos sugerem que a melhora na sensibilidade reflexa induzida pelo Ex ocorrem em função de um aumento na atividade nervosa parassimpática (BRUM e cols., 2000; LIU e cols., 2002; MINAMI e cols., 2003) e outros sugerem uma redução na atividade nervosa simpática (MITCHELL e VICTOR, 1996; BILLMAN, 2002; ZUCKER e cols., 2004; CORNELISSEN e FAGARD, 2005). Adicionalmente, o fato da RVLM estar relacionada à hiperatividade do sistema nervoso simpático na HA (GUYENET, 2006; OLIVEIRA-SALES e cols., 2010) tem evocado o interesse de diversos pesquisadores em avaliar os efeitos benéficos do Ex sobre esta região do cérebro. Dados da literatura mostram que em animais hipertensos sedentários ocorre uma maior atividade de agentes que geram estresse oxidativo (GAO e cols., 2007), maior expressão de mRNA do receptor AT1 (MOUSA e cols., 2008) e maior atividade glutamatérgica na RVLM (ZHA e cols., 2013). Outros estudos mostraram que o Ex induziu uma maior ativação dos mecanismos antioxidantes e reduziu os mecanismos pró-oxidantes na RVLM em coelhos com insuficiência cardíaca (GAO e cols., 2007) e de ratos SHR (AGARWAL e cols., 2011; ZHA e cols., 2013). Além disso, dados em andamento de nosso laboratório mostram que o Ex reduz os níveis de expressão do mRNA das isoformas das NOS (nNOS, iNOS e eNOS), a concentração de TBARS, um indicador da peroxidação lipídica e aumento da atividade da enzima antioxidante catalase na RVLM. Zha e cols. (2013) mostraram que o Ex, em esteria de moderada intensidade, reduziu a PA e atividade simpática, reduziu o efeito hipotensor induzido pelo antagonista de glutamato na RVLM, a concentração de glutamato e a expressão da proteína vesicular transportador de glutamato (vGLUT₂) na RVLM de ratos SHR. Estudos realizados em ratos normotensos mostraram que o Ex induziu na RVLM uma menor expressão de c-fos (MUELLER e cols., 2005), menor magnitude no efeito pressor induzido pela microinjeção do neurotransmissor excitatório, glutamato (MARTINS-PINGE e cols., 2005; MUELLER, 2007b) e menor ANSL (MUELLER, 2007b). Em conjunto, esses dados sugerem que a redução na atividade simpatoexcitatória induzida pelo Ex está associada a uma menor atividade excitatória dos neurônios da RVLM.

Estudos (FONTES e cols., 1997; BECKER e cols., 2005; ALZAMORA e cols., 2006; ZHOU e cols., 2010) mostraram que a microinjeção de Ang-(1-7) e Ang II na RVLM de ratos normotensos induziram um efeito pressor similar entre si e maiores que a microinjeção de salina. Dados não publicados de nosso laboratório (CANGUSSU, 2008) também mostraram que a microinjeção de Ang-(1-7) e Ang II na RVLM de ratos normotensos produziram efeito pressor similares entre si e maior do que a salina. No entanto, dados da literatura tem mostrado que os peptídeos angiotensinérgicos, Ang-(1-7) e Ang II, microinjetados na RVLM de ratos hipertensos apresentam maior efeito pressor em relação a ratos normotensos (NAKAGAKI e cols., 2011; DU e cols., 2013). Além disso, estudos mostraram que a

microinjeção de glutamato na RVLM de ratos com hipertensão renovascular 2R1C induziu efeito pressor maior em relação aos ratos normotensos (BERGAMASCHI e cols., 1995; CARVALHO e cols., 2003). Dados não publicados de nosso laboratório (CANGUSSU, 2008) corroboram com esses estudos ao mostrarem que a microinjeção de Ang-(1-7) e Ang II na RVLM de ratos com hipertensão 2R1C induziram efeitos pressores similares e maiores em relação aos ratos normotensos.

Como já mencionado o Ex atua modulando a atividade neuronal em áreas centrais responsáveis pelo controle da PA (BEATTY e cols., 2005; MARTINS-PINGE e cols., 2005; RODRIGUES e cols., 2007; ZHA e cols., 2013). Estudo de Becker e cols. (2005) mostraram que microinjeção de Ang-(1-7) na RVLM induziu efeito pressor menor do que o efeito pressor induzido pela Ang II em ratos normotensos submetidos ao Ex de natação, sugerindo uma alteração na responsividade neuronal da RVLM induzida pelos peptídeos angiotensinérgicos em ratos submetidos ao Ex. Esses autores sugerem que essa diferença na responsividade aos peptídeos angiotensinérgicos, Ang-(1-7) e Ang II, pode ser devido à diminuição das concentrações endógenas de Ang-(1-7) e Ang II na RVLM em resposta ao Ex. A maior concentração endógena de Ang-(1-7) levaria a um *dowregulation* do receptor Mas e a menor concentração endógena de Ang II levaria a um *upregulation* do receptor AT1. De forma contrária, os resultados do presente estudo sugerem que o Ex de natação atenuou a resposta pressora da Ang-(1-7) e Ang II na RVLM dos ratos 2R1C como já mencionado. Dados de Zha e cols. (2013) mostram que os níveis elevados de PAM em ratos SHR estão relacionados às maiores concentrações de glutamato e a maior expressão da proteína vesicular transportador 2 de glutamato (vGLUT2) na RVLM em relação aos ratos normotensos. Os dados do presente estudo em que a Ang-(1-7) e Ang II na RVLM induziram menor efeito hipertensor em ratos 2R1C submetidos ao Ex em relação aos ratos 2R1C Sed (Dados não publicados de nosso laboratório, CANGUSSU, 2008) podem ser explicados por uma melhora no balanço entre as citocinas pro e anti-inflamatórias e uma atenuação do estresse oxidativo na RVLM de ratos submetidos ao Ex de moderada intensidade (AGARWAL e cols., 2011), provavelmente devido a uma redução do eixo ECA/AngII/ AT1 e um aumento do eixo ECAII/ Ang-(1-7)/ Mas. Além de uma possível redução na concentração de glutamato e da expressão de seu transportador (vGLUT2) na RVLM (ZHA e cols., 2013).

Evidências mostram que os efeitos cardiovasculares produzidos centralmente pela microinjeção de Ang-(1-7) são mediados pelo receptor Mas (SANTOS e cols., 2003) e bloqueados pelo o antagonista seletivo A-779 (SANTOS e cols., 1994; SANTOS e cols., 2000; CANGUSSU e cols., 2009) e não são afetados pelos antagonistas do receptor AT1 e AT2 (FONTES e cols., 1994; SANTOS e cols., 1994). No presente estudo observamos que os efeitos pressores induzidos pelas microinjeções de Ang-(1-7) foram bloqueados pelo A-779 por até 30 minutos nos ratos Sham Ex e 2R1C Ex. Em adição, dados não publicados

de nosso laboratório (CANGUSSU, 2008) confirmam os resultados do presente estudo ao mostrarem que em animais sedentários o efeito pressor da Ang-(1-7) foi bloqueado por até 30 minutos, após a microinjeção de A-779, tanto em animais Sham como 2R1C.

Estudo de Fontes e cols. (1997) em ratos normotensos acordados mostra que a microinjeção de A-779 na RVLM induziu decréscimo da PAM. Contrariamente Becker e cols. (2005) e dados não publicados de nosso laboratório (CANGUSSU, 2008) mostraram que a microinjeção de A-779 na RVLM de ratos sedentários (Sham e 2R1C) induziu um efeito pressor semelhante ao da salina. Similarmente, no presente estudo mostramos que o efeito induzido pela microinjeção na RVLM do A-779 em ratos Sham Ex e 2R1C Ex foi semelhante à salina, sugerindo que a Ang-(1-7) endógena na RVLM não participa dos níveis basais de PAM tanto em ratos normotensos quanto em ratos 2R1C. Entretanto, Du e cols. (2013) mostraram que a microinjeção de A-779 na RVLM induziu queda da PA em ratos com hipertensão provocada por estresse (choque elétrico).

A Ang II se liga a dois subtipos de receptores: o receptor AT1, que é sensível a losartana (DUP 753); e o receptor AT2, que é sensível ao PD123319 (CHIU e cols., 1989; WONG e cols., 1990; BOTTARI e cols., 1992). No entanto, é sua ligação ao receptor AT1 que medeia à maioria dos efeitos cardiovasculares da Ang II que podem levar a HA, incluindo o estresse oxidativo, a liberação de norepinefrina, a vasoconstrição, a secreção de aldosterona, a reabsorção renal de sódio, a estimulação simpática, a liberação de vasopressina, a hipertrofia celular vascular e cardíaca e, a proliferação celular (STRAWN e cols., 1999; NICKENIG e HARRISON, 2002a; b). Por esse motivo, no presente estudo avaliamos o bloqueio do efeito pressor induzido pela Ang II na RVLM apenas pelo seu antagonista específico para AT1, losartana. Os dados não publicados de nosso laboratório (CANGUSSU, 2008) mostram que em animais Sed (Sham e 2R1C) o efeito pressor da Ang II foi bloqueado por até 30 minutos, após a microinjeção de losartana. Semelhantemente, no presente estudo nos animais Sham Ex e 2R1C Ex, o efeito pressor da Ang II foi abolido após a microinjeção de losartana por até 30 minutos.

Estudos com ratos normotensos sedentários acordados (FONTES e cols., 1997) e anestesiados (BECKER e cols., 2005) mostraram que a microinjeção de losartana na RVLM induziu efeito pressor maior do que a salina. Similarmente, dados não publicados de nosso laboratório (CANGUSSU, 2008) mostram que a microinjeção de losartana na RVLM induziu efeito pressor maior do que a salina tanto em ratos normotensos como em ratos com hipertensão 2R1C. Entretanto, Du e cols. (2013) mostraram que a microinjeção de losartana na RVLM de ratos com hipertensão gerada por estresse (choque elétrico) induziu redução da PAM em relação aos animais controle. Becker e cols. (2005) mostraram que o efeito pressor induzido pela losartana na RVLM de ratos normotensos exercitados anestesiados foi semelhante ao efeito da salina. Similarmente, os dados do presente estudo mostraram que a microinjeção de losartana na RVLM induziu efeito pressor semelhante ao da salina

tanto em ratos Sham Ex como em ratos 2R1C Ex. Uma possível explicação para o efeito pressor da losartana na RVLM de ratos 2R1C Ex ser similar ao efeito pressor em ratos 2R1C Sed é que o Ex poderia diminuir a atividade do eixo ECA/ Ang II/ AT1 e aumentar a atividade do eixo ECA2/ Ang-(1-7)/ Mas (KAR e cols., 2010; AGARWAL e cols., 2011), dessa forma diminuiria a concentração de Ang II e/ ou a expressão do receptor AT1 e os níveis de glutamato e de seu transportador (vGLUT2) na RVLM. Sendo assim, no presente estudo a microinjeção de losartana na RVLM não induziu a um efeito pressor significativo nos ratos Sham Ex e 2R1C Ex. Esses resultados são similares a outros estudos da literatura (OLIVEIRA-SALES e cols., 2010; AGARWAL e cols., 2011; ZHA e cols., 2013) que mostraram neuroplasticidade na RVLM de ratos hipertensos submetidos ao Ex de baixa a moderada intensidade.

Considerando os dados não publicados de nosso laboratório (CANGUSSU, 2008) mostramos que o Ex foi capaz de restaurar a reatividade neuronal da RVLM aos peptídeos Ang II e Ang-(1-7) em ratos 2R1C, uma vez que o efeito pressor induzido pela Ang-(1-7) e Ang II na RVLM de ratos 2R1C Ex foi menor em relação aos ratos 2R1C Sed. Além disso, o efeito pressor induzido pelo bloqueio do receptor AT1 de Ang II foi menor nos animais 2R1C Ex em relação aos ratos 2R1C Sed.

6 CONCLUSÃO

Nossos dados em conjunto mostraram que os ratos com hipertensão 2R1C demoram mais tempo para atingir a hiperlactacidemia em comparação aos ratos Sham. O protocolo incremental proposto foi capaz de identificar o Lan através da [LA] e [Glic] em ratos Fisher Sham e 2R1C. Os animais com hipertensão renovascular 2R1C apresentam menor aptidão aeróbica em comparação aos ratos Sham e aos ratos Wistar (VOLTARELLI e cols., 2002). A MFEL validou as cargas do LL a LG nos animais Sham e 2R1C, sugerindo a aplicabilidade prática dos métodos LL e LG como estimativa da máxima intensidade de Ex sem aumento exponencial da [LA]. Apesar do TLM e TGM sugerirem que o Ex de natação foi de maior intensidade para os ratos com hipertensão renovascular 2R1C em comparação aos ratos normotensos, o Ex de natação foi eficiente em reduzir a PA e FC, além de induzir neuroplasticidade na importante área simpatoexcitatória RVLM, aos peptídeos angiotensinérgicos, de ratos com hipertensão renovascular 2R1C. Sendo assim, os resultados do presente estudo podem ser úteis em futuras pesquisas sobre os efeitos de diferentes intensidades de exercício, relativas ao LL e LG, nos aspectos relacionados à hipertensão.

REFERÊNCIAS

- Agarwal, D., M. A. Welsch, J. N. Keller, e cols. **Chronic exercise modulates RAS components and improves balance between pro- and anti-inflammatory cytokines in the brain of SHR.** Basic Res Cardiol, v.106, n.6, Nov, p.1069-85. 2011.
- Agarwal, S. K. e F. R. Calaresu. **Reciprocal connections between nucleus tractus solitarii and rostral ventrolateral medulla.** Brain Res, v.523, n.2, Jul 23, p.305-8. 1990.
- _____. **Monosynaptic connection from caudal to rostral ventrolateral medulla in the baroreceptor reflex pathway.** Brain Res, v.555, n.1, Jul 26, p.70-4. 1991.
- Akabane, S., T. Natsume, Y. Matsushima, e cols. **Alterations in renal Na+K+ATPase activity and [3H]ouabain binding in Goldblatt hypertensive rabbits.** J Hypertens, v.3, n.5, Oct, p.469-74. 1985.
- Akande, T. O., J. O. Adeleye e S. Kadiri. **Insulin resistance in Nigerians with essential hypertension.** Afr Health Sci, v.13, n.3, Sep, p.655-60. 2013.
- Albiston, A. L., S. G. Mcdowall, D. Matsacos, e cols. **Evidence that the angiotensin IV (AT(4)) receptor is the enzyme insulin-regulated aminopeptidase.** J Biol Chem, v.276, n.52, Dec 28, p.48623-6. 2001.
- Alenina, N., T. Baranova, E. Smirnow, e cols. **Cell type-specific expression of the Mas proto-oncogene in testis.** J Histochem Cytochem, v.50, n.5, May, p.691-6. 2002.
- Ally, A., S. Kabadi, S. Phattanarudee, e cols. **Neuronal nitric oxide synthase (nNOS) blockade within the ventrolateral medulla differentially modulates cardiovascular responses and nNOS expression during static skeletal muscle contraction.** Brain Res, v.1150, May 30, p.21-31. 2007.
- Ally, A. e T. J. Maher. **Endothelial NOS expression within the ventrolateral medulla can affect cardiovascular function during static exercise in stroked rats.** Brain Res, v.1196, Feb 27, p.33-40. 2008.
- Ally, A., S. Phattanarudee, S. Kabadi, e cols. **Cardiovascular responses and neurotransmitter changes during static muscle contraction following blockade of inducible nitric oxide synthase (iNOS) within the ventrolateral medulla.** Brain Res, v.1090, n.1, May 23, p.123-33. 2006.
- Alzamora, A. C., R. A. Santos e M. J. Campagnole-Santos. **Hypotensive effect of ANG II and ANG-(1-7) at the caudal ventrolateral medulla involves different mechanisms.** Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, v.283, n.5, Nov, p.R1187-95. 2002.
- _____. **Baroreflex modulation by angiotensins at the rat rostral and caudal ventrolateral medulla.** Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, v.290, n.4, Apr, p.R1027-34. 2006.
- Averill, D. B. e D. I. Diz. **Angiotensin peptides and baroreflex control of sympathetic outflow: pathways and mechanisms of the medulla oblongata.** Brain Res Bull, v.51, n.2, Jan 15, p.119-28. 2000.
- Averill, D. B., T. Tsuchihashi, M. C. Khosla, e cols. **Losartan, nonpeptide angiotensin II-type 1 (AT1) receptor antagonist, attenuates pressor and sympathoexcitatory**

responses evoked by angiotensin II and L-glutamate in rostral ventrolateral medulla. Brain Res, v.665, n.2, Dec 5, p.245-52. 1994.

Azevedo, P. H. S. M., G. A., J. M. P. Duarte, e cols. **Limiar anaeróbio e bioenergética: uma abordagem didática.** Revista da Educação Física / UEM, v.20, n.3, p.453-464. 2009.

Beatty, J. A., J. M. Kramer, E. D. Plowey, e cols. **Physical exercise decreases neuronal activity in the posterior hypothalamic area of spontaneously hypertensive rats.** J Appl Physiol, v.98, n.2, Feb, p.572-8. 2005.

Becker, L. K., R. A. Santos e M. J. Campagnole-Santos. **Cardiovascular effects of angiotensin II and angiotensin-(1-7) at the RVLM of trained normotensive rats.** Brain Res, v.1040, n.1-2, Apr 8, p.121-8. 2005.

Beneke, R., M. Hutler e R. M. Leithauser. **Maximal lactate-steady-state independent of performance.** Med Sci Sports Exerc, v.32, n.6, Jun, p.1135-9. 2000.

Beneke, R. e S. P. Von Duvillard. **Determination of maximal lactate steady state response in selected sports events.** Med Sci Sports Exerc, v.28, n.2, Feb, p.241-6. 1996.

Bergamaschi, C., R. R. Campos, N. Schor, e cols. **Role of the rostral ventrolateral medulla in maintenance of blood pressure in rats with Goldblatt hypertension.** Hypertension, v.26, n.6 Pt 2, Dec, p.1117-20. 1995.

Billat, V. L., E. Mouisel, N. Roblot, e cols. **Inter- and intrastrain variation in mouse critical running speed.** J Appl Physiol (1985), v.98, n.4, Apr, p.1258-63. 2005.

Billat, V. L., P. Sirvent, G. Py, e cols. **The concept of maximal lactate steady state: a bridge between biochemistry, physiology and sport science.** Sports Med, v.33, n.6, p.407-26. 2003.

Billman, G. E. **Aerobic exercise conditioning: a nonpharmacological antiarrhythmic intervention.** J Appl Physiol, v.92, n.2, Feb, p.446-54. 2002.

Boissiere, J., M. C. Lemaire, D. Antier, e cols. **Exercise and vasorelaxing effects of CO-releasing molecules in hypertensive rats.** Med Sci Sports Exerc, v.38, n.4, Apr, p.652-9. 2006.

Botezelli, J. D., L. T. Cambri, A. C. Ghezzi, e cols. **Different exercise protocols improve metabolic syndrome markers, tissue triglycerides content and antioxidant status in rats.** Diabetol Metab Syndr, v.3, p.35. 2011.

Bottari, S. P., I. N. King, S. Reichlin, e cols. **The angiotensin AT2 receptor stimulates protein tyrosine phosphatase activity and mediates inhibition of particulate guanylate cyclase.** Biochem Biophys Res Commun, v.183, n.1, Feb 28, p.206-11. 1992.

Braith, R. W., M. A. Welsch, M. S. Feigenbaum, e cols. **Neuroendocrine activation in heart failure is modified by endurance exercise training.** J Am Coll Cardiol, v.34, n.4, Oct, p.1170-5. 1999.

Brooks, G. A. **Current concepts in lactate exchange.** Med Sci Sports Exerc, v.23, n.8, Aug, p.895-906. 1991.

Brooks, V. L., K. L. Freeman e K. A. Clow. **Excitatory amino acids in rostral ventrolateral medulla support blood pressure during water deprivation in rats.** Am J Physiol Heart Circ Physiol, v.286, n.5, May, p.H1642-8. 2004.

Brooks, V. L., K. L. Freeman e T. L. O'donaughy. **Acute and chronic increases in osmolality increase excitatory amino acid drive of the rostral ventrolateral medulla in rats.** Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, v.287, n.6, Dec, p.R1359-68. 2004.

Brum, P. C., G. J. Da Silva, E. D. Moreira, e cols. **Exercise training increases baroreceptor gain sensitivity in normal and hypertensive rats.** Hypertension, v.36, n.6, Dec, p.1018-22. 2000.

Brunner, H. R., J. H. Laragh, L. Baer, e cols. **Essential hypertension: renin and aldosterone, heart attack and stroke.** N Engl J Med, v.286, n.9, Mar 2, p.441-9. 1972.

Bumpus, F. M., K. J. Catt, A. T. Chiu, e cols. **Nomenclature for angiotensin receptors. A report of the Nomenclature Committee of the Council for High Blood Pressure Research.** Hypertension, v.17, n.5, May, p.720-1. 1991.

Campbell, D. J. **The renin-angiotensin and the kallikrein-kinin systems.** Int J Biochem Cell Biol, v.35, n.6, Jun, p.784-91. 2003.

Campos Junior, R. R. e P. G. Guertzenstein. **Role of the glycine sensitive area in the regulation of cardiac output.** Prog Brain Res, v.81, p.243-51. 1989.

Cangussu, L. M. **Efeitos cardiovasculares induzidos por antagonistas angiotensinérgicos no bulbo ventrolateral de ratos com hipertensão renovascular.** NUPEB, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2008. 111 p.

Cangussu, L. M., U. G. De Castro, R. Do Pilar Machado, e cols. **Angiotensin-(1-7) antagonist, A-779, microinjection into the caudal ventrolateral medulla of renovascular hypertensive rats restores baroreflex bradycardia.** Peptides, v.30, n.10, Oct, p.1921-7. 2009.

Carey, R. M. e H. M. Siragy. **Newly recognized components of the renin-angiotensin system: potential roles in cardiovascular and renal regulation.** Endocr Rev, v.24, n.3, Jun, p.261-71. 2003.

Caringi, D., T. J. Maher, P. Chaiyakul, e cols. **Extracellular glutamate increases in rostral ventrolateral medulla during static muscle contraction.** Pflugers Arch, v.435, n.4, Mar, p.465-71. 1998.

Carretero, O. A. e J. C. Romero. Production and characteristics of the experimental hypertension in animals. In: G. Genest, E. Koin, e cols. (Ed.). **Hypertension.** New York: McGraw, 1977. Production and characteristics of the experimental hypertension in animals, p.485-507

Carvalho, J. F., M. O. Masuda e F. A. Pompeu. **Method for diagnosis and control of aerobic training in rats based on lactate threshold.** Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol, v.140, n.4, Apr, p.409-13. 2005.

Carvalho, T. H., C. T. Bergamaschi, O. U. Lopes, e cols. **Role of endogenous angiotensin II on glutamatergic actions in the rostral ventrolateral medulla in Goldblatt hypertensive rats.** Hypertension, v.42, n.4, Oct, p.707-12. 2003.

Cervenka, L., V. Horacek, I. Vaneckova, e cols. **Essential role of AT1A receptor in the development of 2K1C hypertension.** Hypertension, v.40, n.5, Nov, p.735-41. 2002.

Chan, R. K. e P. E. Sawchenko. **Organization and transmitter specificity of medullary neurons activated by sustained hypertension: implications for understanding baroreceptor reflex circuitry.** J Neurosci, v.18, n.1, Jan 1, p.371-87. 1998.

Chappell, M. C., D. W. Jacobsen e E. A. Tallant. **Characterization of angiotensin II receptor subtypes in pancreatic acinar AR42J cells.** Peptides, v.16, n.4, p.741-7. 1995.

Chen, A. D., S. J. Zhang, N. Yuan, e cols. **Angiotensin AT1 receptors in paraventricular nucleus contribute to sympathetic activation and enhanced cardiac sympathetic afferent reflex in renovascular hypertensive rats.** Exp Physiol, v.96, n.2, Feb, p.94-103. 2011.

Chiu, A. T., W. F. Herblin, D. E. Mccall, e cols. **Identification of angiotensin II receptor subtypes.** Biochem Biophys Res Commun, v.165, n.1, Nov 30, p.196-203. 1989.

Chmura, J., K. Nazar e H. Kaciuba-Uscilko. **Choice reaction time during graded exercise in relation to blood lactate and plasma catecholamine thresholds.** Int J Sports Med, v.15, n.4, May, p.172-6. 1994.

Chwalbinska-Moneta, J., H. Kaciuba-Uscilko, H. Kryzstofiak, e cols. **Relationship between EMG blood lactate, and plasma catecholamine thresholds during graded exercise in men.** J Physiol Pharmacol, v.49, n.3, Sep, p.433-41. 1998.

Claessens, P., C. Claessens, M. Claessens, e cols. **Ventricular premature beats in triathletes: still a physiological phenomenon?** Cardiology, v.92, n.1, p.28-38. 1999.

Conconi, F., M. Ferrari, P. G. Ziglio, e cols. **Determination of the anaerobic threshold by a noninvasive field test in runners.** J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol, v.52, n.4, Apr, p.869-73. 1982.

Cornelissen, V. A. e R. H. Fagard. **Effects of endurance training on blood pressure, blood pressure-regulating mechanisms, and cardiovascular risk factors.** Hypertension, v.46, n.4, Oct, p.667-75. 2005.

Cunha, R. R., V. N. Cunha, P. R. Segundo, e cols. **Determination of the lactate threshold and maximal blood lactate steady state intensity in aged rats.** Cell Biochem Funct, v.27, n.6, Aug, p.351-7. 2009.

Cunha, T. M., W. G. Lima, M. E. Silva, e cols. **The nonpeptide ANG-(1-7) mimic AVE 0991 attenuates cardiac remodeling and improves baroreflex sensitivity in renovascular hypertensive rats.** Life Sci, v.92, n.4-5, Mar 12, p.266-75. 2013.

Cunha, V. N. C., R. R. Cunha, P. R. Segundo, e cols. **Swimming training at anaerobic threshold intensity improves the functional fitness of older rats.** Rev Bras Med Esporte, v.14, n.6, p.533-538. 2008.

_____. **Oito semanas de treinamento moderado não altera a carga correspondente ao limiar de lactato em ratos idosos.** Rev Port Cienc Desp, v.8, n.2, p.277-283. 2008.

Dampney, R. A. **Functional organization of central pathways regulating the cardiovascular system.** Physiol Rev, v.74, n.2, Apr, p.323-64. 1994.

Dampney, R. A., M. J. Coleman, M. A. Fontes, e cols. **Central mechanisms underlying short- and long-term regulation of the cardiovascular system.** Clin Exp Pharmacol Physiol, v.29, n.4, Apr, p.261-8. 2002.

- Danilczyk, U. e J. M. Penninger. **Angiotensin-converting enzyme II in the heart and the kidney**. *Circ Res*, v.98, n.4, Mar 3, p.463-71. 2006.
- De Castro, U. G. M., G. G. Sousa, R. P. Machado, e cols. **Nitric oxide at the cvlm is involved in the attenuation of the reflex bradycardia in renovascular hypertensive rats** *Nitric Oxide* v.Acceptded. 2012.
- Donoghue, M., F. Hsieh, E. Baronas, e cols. **A novel angiotensin-converting enzyme-related carboxypeptidase (ACE2) converts angiotensin I to angiotensin 1-9**. *Circ Res*, v.87, n.5, Sep 1, p.E1-9. 2000.
- Donovan, C. M. e G. A. Brooks. **Endurance training affects lactate clearance, not lactate production**. *Am J Physiol*, v.244, n.1, Jan, p.E83-92. 1983.
- Du, D., J. Chen, M. Liu, e cols. **The effects of angiotensin II and angiotensin-(1-7) in the rostral ventrolateral medulla of rats on stress-induced hypertension**. *PLoS One*, v.8, n.8, p.e70976. 2013.
- Fagard, R. H. **Exercise characteristics and the blood pressure response to dynamic physical training**. *Med Sci Sports Exerc*, v.33, n.6 Suppl, Jun, p.S484-92; discussion S493-4. 2001.
- Fazan, R. J., V. J. D. Silva e H. C. Salgado. **Modelos de hipertensão arterial**. *Rev Bras Hipertens*, v. 8, p. 19-29. 2001.
- Feldman, J. L. e H. H. Ellenberger. **Central coordination of respiratory and cardiovascular control in mammals**. *Annu Rev Physiol*, v.50, p.593-606. 1988.
- Ferrario, C. M. **Angiotensin-converting enzyme 2 and angiotensin-(1-7): an evolving story in cardiovascular regulation**. *Hypertension*, v.47, n.3, Mar, p.515-21. 2006.
- Ferrario, C. M., M. C. Chappell, R. H. Dean, e cols. **Novel angiotensin peptides regulate blood pressure, endothelial function, and natriuresis**. *J Am Soc Nephrol*, v.9, n.9, Sep, p.1716-22. 1998.
- Ferrario, C. M. e W. B. Strawn. **Role of the renin-angiotensin-aldosterone system and proinflammatory mediators in cardiovascular disease**. *Am J Cardiol*, v.98, n.1, Jul 1, p.121-8. 2006.
- Ferreira, A. J., T. L. Oliveira, M. C. Castro, e cols. **Isoproterenol-induced impairment of heart function and remodeling are attenuated by the nonpeptide angiotensin-(1-7) analogue AVE 0991**. *Life Sci*, v.81, n.11, Aug 23, p.916-23. 2007.
- Ferreira, J. C., N. P. Rolim, J. B. Bartholomeu, e cols. **Maximal lactate steady state in running mice: effect of exercise training**. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, v.34, n.8, Aug, p.760-5. 2007.
- Fontes, M. A., M. C. Martins Pinge, V. Naves, e cols. **Cardiovascular effects produced by microinjection of angiotensins and angiotensin antagonists into the ventrolateral medulla of freely moving rats**. *Brain Res*, v.750, n.1-2, Mar 7, p.305-10. 1997.
- Fontes, M. A., L. C. Silva, M. J. Campagnole-Santos, e cols. **Evidence that angiotensin-(1-7) plays a role in the central control of blood pressure at the ventro-lateral medulla acting through specific receptors**. *Brain Res*, v.665, n.1, Nov 28, p.175-80. 1994.

Frohlich, E. D. **Ischemia and fibrosis: the risk mechanisms of hypertensive heart disease.** Braz J Med Biol Res, v.33, n.6, Jun, p.693-700. 2000.

Gao, L., W. Wang, Y. L. Li, e cols. **Simvastatin therapy normalizes sympathetic neural control in experimental heart failure: roles of angiotensin II type 1 receptors and NAD(P)H oxidase.** Circulation, v.112, n.12, Sep 20, p.1763-70. 2005.

Gao, L., W. Wang, D. Liu, e cols. **Exercise training normalizes sympathetic outflow by central antioxidant mechanisms in rabbits with pacing-induced chronic heart failure.** Circulation, v.115, n.24, Jun 19, p.3095-102. 2007.

Gobatto, C. A., M. A. De Mello, C. Y. Sibuya, e cols. **Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise.** Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol, v.130, n.1, Aug, p.21-7. 2001.

Gobatto, C. A., E. Kokubun, C. Y. Sibuya, e cols. **Efeitos da desnutrição protéico-calórica e do treinamento físico na produção de ácido láctico em ratos machos adultos após teste de cargas progressivas. Resultados Preliminares.** Ciência e Cultura, v.43, p.725-726. 1991.

Goldblatt, H., J. Lynch, R. F. Hanzal, e cols. **Studies on Experimental Hypertension : I. the Production of Persistent Elevation of Systolic Blood Pressure by Means of Renal Ischemia.** J Exp Med, v.59, n.3, Feb 28, p.347-79. 1934a.

Gomes-Filho, A., A. J. Ferreira, S. H. Santos, e cols. **Selective increase of Angiotensin-(1-7) and its receptor in spontaneously hypertensive rat hearts subjected to physical training.** Exp Physiol, Feb 15. 2008.

Guertzenstein, P. G. **Blood pressure effects obtained by drugs applied to the ventral surface of the brain stem.** J Physiol, v.229, n.2, Mar, p.395-408. 1973.

Gurley, S. B. e T. M. Coffman. **Angiotensin-converting enzyme 2 gene targeting studies in mice: mixed messages.** Exp Physiol, v.93, n.5, May, p.538-42. 2008.

Guyenet, P. G. **The sympathetic control of blood pressure.** Nat Rev Neurosci, v.7, n.5, May, p.335-46. 2006.

Handa, R. K. **Metabolism alters the selectivity of angiotensin-(1-7) receptor ligands for angiotensin receptors.** J Am Soc Nephrol, v.11, n.8, Aug, p.1377-86. 2000.

Haverty, M., W. L. Kenney e J. L. Hodgson. **Lactate and gas exchange responses to incremental and steady state running.** Br J Sports Med, v.22, n.2, Jun, p.51-4. 1988.

Hayashi, A., A. Kobayashi, R. Takahashi, e cols. **Effects of voluntary running exercise on blood pressure and renin-angiotensin system in spontaneously hypertensive rats and normotensive Wistar-Kyoto rats.** J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo), v.46, n.4, Aug, p.165-70. 2000.

Heesch, C. M. **Reflexes that control cardiovascular function.** Am J Physiol, v.277, n.6 Pt 2, Dec, p.S234-43. 1999.

Hu, L., D. N. Zhu, Z. Yu, e cols. **Expression of angiotensin II type 1 (AT(1)) receptor in the rostral ventrolateral medulla in rats.** J Appl Physiol, v.92, n.5, May, p.2153-61. 2002.

- Ichiyama, R. M., A. B. Gilbert, T. G. Waldrop, e cols. **Changes in the exercise activation of diencephalic and brainstem cardiorespiratory areas after training.** Brain Res, v.947, n.2, Aug 30, p.225-33. 2002.
- Ishide, T., S. M. Nauli, T. J. Maher, e cols. **Cardiovascular responses and neurotransmitter changes following blockade of nNOS within the ventrolateral medulla during static muscle contraction.** Brain Res, v.977, n.1, Jul 4, p.80-9. 2003.
- Iusuf, D., R. H. Henning, W. H. Van Gilst, e cols. **Angiotensin-(1-7): pharmacological properties and pharmacotherapeutic perspectives.** Eur J Pharmacol, v.585, n.2-3, May 13, p.303-12. 2008.
- Johren, O., A. Dendorfer e P. Dominiak. **Cardiovascular and renal function of angiotensin II type-2 receptors.** Cardiovasc Res, v.62, n.3, Jun 1, p.460-7. 2004.
- Junior, P. B., C. M. Neiva e B. S. Denadai. **Effect of an acute beta-adrenergic blockade on the blood glucose response during lactate minimum test.** J Sci Med Sport, v.4, n.3, Sep, p.257-65. 2001.
- Kar, S., L. Gao e I. H. Zucker. **Exercise training normalizes ACE and ACE2 in the brain of rabbits with pacing-induced heart failure.** J Appl Physiol, v.108, n.4, Apr, p.923-32. 2010.
- Klima, L., K. Stolarz Skrzypek, R. Olszanecki, e cols. **[The oxidative stress in pathogenesis of arterial hypertension - role of methylated arginines].** Kardiol Pol, v.69 Suppl 3, p.94-9. 2011.
- Kramer, J. M., J. A. Beatty, H. R. Little, e cols. **Chronic exercise alters caudal hypothalamic regulation of the cardiovascular system in hypertensive rats.** Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, v.280, n.2, Feb, p.R389-97. 2001.
- Krieger, E. M., P. C. Brum e C. E. Negrao. **State-of-the-Art lecture: influence of exercise training on neurogenic control of blood pressure in spontaneously hypertensive rats.** Hypertension, v.34, n.4 Pt 2, Oct, p.720-3. 1999.
- Krieger, E. M., H. C. Salgado, C. J. Assan, e cols. **Potential screening test for detectatios of overactivity of renin-angiotensin system.** Lancet, v.1, p.269-271. 1971.
- Kusserow, H. e T. Unger. **Vasoactive peptides, their receptors and drug development.** Basic Clin Pharmacol Toxicol, v.94, n.1, Jan, p.5-12. 2004.
- Langfort, J., R. Zarzeczny, W. Pilis, e cols. **Effect of sustained hyperadrenalinemia on exercise performance and lactate threshold in rats.** Comp Biochem Physiol A Physiol, v.114, n.1, May, p.51-5. 1996.
- Lazartigues, E., A. J. Lawrence, F. S. Lamb, e cols. **Renovascular hypertension in mice with brain-selective overexpression of AT1a receptors is buffered by increased nitric oxide production in the periphery.** Circ Res, v.95, n.5, Sep 3, p.523-31. 2004.
- Lindstrom, P. **The physiology of obese-hyperglycemic mice [ob/ob mice].** ScientificWorldJournal, v.7, p.666-85. 2007.
- Liu, J. L., J. Kulakofsky e I. H. Zucker. **Exercise training enhances baroreflex control of heart rate by a vagal mechanism in rabbits with heart failure.** J Appl Physiol, v.92, n.6, Jun, p.2403-8. 2002.

- Lo, M., K. L. Liu, P. Lantelme, e cols. **Subtype 2 of angiotensin II receptors controls pressure-natriuresis in rats**. J Clin Invest, v.95, n.3, Mar, p.1394-7. 1995.
- Lorell, B. H. e B. A. Carabello. **Left ventricular hypertrophy: pathogenesis, detection, and prognosis**. Circulation, v.102, n.4, Jul 25, p.470-9. 2000.
- Manchado-Gobatto, F. B., C. A. Gobatto, R. V. Contarteze, e cols. **Non-exhaustive test for aerobic capacity determination in running rats**. Indian J Exp Biol, v.49, n.10, Oct, p.781-5. 2006.
- Martins-Pinge, M. C., L. K. Becker, M. R. Garcia, e cols. **Attenuated pressor responses to amino acids in the rostral ventrolateral medulla after swimming training in conscious rats**. Auton Neurosci, v.122, n.1-2, Oct 30, p.21-8. 2005.
- Matsukawa, R., Y. Hirooka, K. Ito, e cols. **Inhibition of neuregulin-1/ErbB signaling in the rostral ventrolateral medulla leads to hypertension through reduced nitric oxide synthesis**. Am J Hypertens, v.26, n.1, Jan, p.51-7. 2013.
- Mattern, C. O., M. J. Gutilla, D. L. Bright, e cols. **Maximal lactate steady state declines during the aging process**. J Appl Physiol (1985), v.95, n.6, Dec, p.2576-82. 2003.
- Metzger, R., M. Bader, T. Ludwig, e cols. **Expression of the mouse and rat mas proto-oncogene in the brain and peripheral tissues**. FEBS Lett, v.357, n.1, Jan 2, p.27-32. 1995.
- Minami, N., T. Yoshikawa, H. Kataoka, e cols. **Effects of exercise and beta-blocker on blood pressure and baroreflexes in spontaneously hypertensive rats**. Am J Hypertens, v.16, n.11 Pt 1, Nov, p.966-72. 2003.
- Mitchell, J. H. e R. G. Victor. **Neural control of the cardiovascular system: insights from muscle sympathetic nerve recordings in humans**. Med Sci Sports Exerc, v.28, n.10 Suppl, Oct, p.S60-9. 1996.
- Montgomery, H., D. Brull e S. E. Humphries. **Analysis of gene-environment interactions by "stressing-the-genotype" studies: the angiotensin converting enzyme and exercise-induced left ventricular hypertrophy as an example**. Ital Heart J, v.3, n.1, Jan, p.10-4. 2002.
- Moraes-Silva, I. C., R. N. De La Fuente, C. Mostarda, e cols. **Baroreflex deficit blunts exercise training-induced cardiovascular and autonomic adaptations in hypertensive rats**. Clin Exp Pharmacol Physiol, v.37, n.3, Mar, p.e114-20. 2010.
- Mousa, T. M., D. Liu, K. G. Cornish, e cols. **Exercise training enhances baroreflex sensitivity by an angiotensin II-dependent mechanism in chronic heart failure**. J Appl Physiol, v.104, n.3, Mar, p.616-24. 2008.
- Mueller, P. J. **Exercise training and sympathetic nervous system activity: evidence for physical activity dependent neural plasticity**. Clin Exp Pharmacol Physiol, v.34, n.4, Apr, p.377-84. 2007a.
- _____. **Exercise training attenuates increases in lumbar sympathetic nerve activity produced by stimulation of the rostral ventrolateral medulla**. J Appl Physiol, v.102, n.2, Feb, p.803-13. 2007b.

_____. **Physical (in)activity-dependent alterations at the rostral ventrolateral medulla: influence on sympathetic nervous system regulation.** Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, v.298, n.6, Jun, p.R1468-74. 2010.

Mueller, P. J., M. A. Watson, J. T. Cunningham, e cols. **Hypotension-induced fos expression in rostral ventrolateral medulla of exercise trained rats.** Med Sci Sports Exerc, v.37, p.S153-4 (Abstract). 2005.

Muratani, H., C. M. Ferrario e D. B. Averill. **Ventrolateral medulla in spontaneously hypertensive rats: role of angiotensin II.** Am J Physiol, v.264, n.2 Pt 2, Feb, p.R388-95. 1993.

Nakagaki, T., Y. Hirooka, K. Ito, e cols. **Role of angiotensin-(1-7) in rostral ventrolateral medulla in blood pressure regulation via sympathetic nerve activity in Wistar-Kyoto and spontaneous hypertensive rats.** Clin Exp Hypertens, v.33, n.4, p.223-30. 2011.

Nickenig, G. e D. G. Harrison. **The AT(1)-type angiotensin receptor in oxidative stress and atherogenesis: part I: oxidative stress and atherogenesis.** Circulation, v.105, n.3, Jan 22, p.393-6. 2002a.

_____. **The AT(1)-type angiotensin receptor in oxidative stress and atherogenesis: Part II: AT(1) receptor regulation.** Circulation, v.105, n.4, Jan 29, p.530-6. 2002b.

Oliveira-Sales, E. B., D. S. Colombari, R. L. Davisson, e cols. **Kidney-induced hypertension depends on superoxide signaling in the rostral ventrolateral medulla.** Hypertension, v.56, n.2, Aug, p.290-6. 2010.

Oliveira, D. R., R. A. Santos, G. F. Santos, e cols. **Changes in the baroreflex control of heart rate produced by central infusion of selective angiotensin antagonists in hypertensive rats.** Hypertension, v.27, n.6, Jun, p.1284-90. 1996.

Papoti, M., P. B. L. Almeida, F. J. A. Prada, e cols. **Máxima fase estável de lactato durante a natação em ratos recuperados de desnutrição protéica.** Motriz, v.9, n.2, mai./ago, p.103-110. 2003.

Paxinos, G. e C. Watson. **The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates** 1986.

Peach, M. J. **Renin-angiotensin system: biochemistry and mechanisms of action.** Physiol Rev, v.57, n.2, Apr, p.313-70. 1977.

Phillips, M. I., J. Weyhenmeyer, D. Felix, e cols. **Evidence for an endogenous brain renin-angiotensin system.** Fed Proc, v.38, n.9, Aug, p.2260-6. 1979.

Pilis, W., R. Zarzeczny, J. Langfort, e cols. **Anaerobic threshold in rats.** Comp Biochem Physiol Comp Physiol, v.106, n.2, Oct, p.285-9. 1993.

Pinheiro, A. R., A. R. Cunha, M. B. Aguilá, e cols. **Beneficial effects of physical exercise on hypertension and cardiovascular adverse remodeling of diet-induced obese rats.** Nutr Metab Cardiovasc Dis, v.17, n.5, Jun, p.365-75. 2007.

Pinho, D., T. Sousa, M. Morato, e cols. **Lesion of the caudal ventrolateral medulla prevents the induction of hypertension by adenosine receptor blockade in rats.** Brain Res, v.1073-1074, Feb 16, p.374-82. 2006.

Pinto, Y. M., M. Paul e D. Ganten. **Lessons from rat models of hypertension: from Goldblatt to genetic engineering.** Cardiovasc Res, v.39, n.1, Jul, p.77-88. 1998.

- Pitsavos, C., C. Chrysohoou, M. Koutroumbi, e cols. **The impact of moderate aerobic physical training on left ventricular mass, exercise capacity and blood pressure response during treadmill testing in borderline and mildly hypertensive males.** Hellenic J Cardiol, v.52, n.1, Jan-Feb, p.6-14. 2011.
- Pladys, P., I. Lahaie, G. Cambonie, e cols. **Role of brain and peripheral angiotensin II in hypertension and altered arterial baroreflex programmed during fetal life in rat.** Pediatr Res, v.55, n.6, Jun, p.1042-9. 2004.
- Port, K. **Serum and saliva cortisol responses and blood lactate accumulation during incremental exercise testing.** Int J Sports Med, v.12, n.5, Oct, p.490-4. 1991.
- Reudelhuber, T. L. **A place in our hearts for the lowly angiotensin 1-7 peptide?** Hypertension, v.47, n.5, May, p.811-5. 2006.
- Reynolds, T. H. T., M. D. Brown, M. A. Supiano, e cols. **Aerobic exercise training improves insulin sensitivity independent of plasma tumor necrosis factor-alpha levels in older female hypertensives.** Metabolism, v.51, n.11, Nov, p.1402-6. 2002.
- Rheume, C., P. H. Waib, N. Kouame, e cols. **Effects of intense and prolonged exercise on insulin sensitivity and glycogen metabolism in hypertensive subjects.** Circulation, v.108, n.21, Nov 25, p.2653-9. 2003.
- Rodrigues, M. C., M. J. Campagnole-Santos, R. P. Machado, e cols. **Evidence for a role of AT(2) receptors at the CVLM in the cardiovascular changes induced by low-intensity physical activity in renovascular hypertensive rats.** Peptides, v.28, n.7, Jul, p.1375-82. 2007.
- Sampaio, W. O., R. A. Souza Dos Santos, R. Faria-Silva, e cols. **Angiotensin-(1-7) through receptor Mas mediates endothelial nitric oxide synthase activation via Akt-dependent pathways.** Hypertension, v.49, n.1, Jan, p.185-92. 2007.
- Santangelo, L., L. Cigliano, A. Montefusco, e cols. **Evaluation of the antioxidant response in the plasma of healthy or hypertensive subjects after short-term exercise.** J Hum Hypertens, v.17, n.11, Nov, p.791-8. 2003.
- Santos, R. A., K. B. Brosnihan, D. W. Jacobsen, e cols. **Production of angiotensin-(1-7) by human vascular endothelium.** Hypertension, v.19, n.2 Suppl, Feb, p.1156-61. 1992.
- Santos, R. A. e M. J. Campagnole-Santos. **Central and peripheral actions of angiotensin-(1-7).** Braz J Med Biol Res, v.27, n.4, Apr, p.1033-47. 1994.
- Santos, R. A., M. J. Campagnole-Santos e S. P. Andrade. **Angiotensin-(1-7): an update.** Regul Pept, v.91, n.1-3, Jul 28, p.45-62. 2000.
- Santos, R. A., M. J. Campagnole-Santos, N. C. Baracho, e cols. **Characterization of a new angiotensin antagonist selective for angiotensin-(1-7): evidence that the actions of angiotensin-(1-7) are mediated by specific angiotensin receptors.** Brain Res Bull, v.35, n.4, p.293-8. 1994.
- Santos, R. A., C. H. Castro, E. Gava, e cols. **Impairment of in vitro and in vivo heart function in angiotensin-(1-7) receptor MAS knockout mice.** Hypertension, v.47, n.5, May, p.996-1002. 2006.

Santos, R. A. e A. J. Ferreira. **Angiotensin-(1-7) and the renin-angiotensin system**. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, v.16, n.2, Mar, p.122-8. 2007.

Santos, R. A., A. J. Ferreira e E. S. A. C. Simoes. **Recent advances in the angiotensin-converting enzyme 2-angiotensin(1-7)-Mas axis**. *Exp Physiol*, v.93, n.5, May, p.519-27. 2008.

Santos, R. A., A. C. Simoes E Silva, C. Maric, e cols. **Angiotensin-(1-7) is an endogenous ligand for the G protein-coupled receptor Mas**. *Proc Natl Acad Sci U S A*, v.100, n.14, Jul 8, p.8258-63. 2003.

Sapozhnikova, I. E., E. I. Tarlovskaia e A. K. Tarlovskii. **[Variants of remodeling of left ventricular myocardium in patients with arterial hypertension and disturbances of carbohydrate metabolism]**. *Kardiologija*, v.53, n.8, p.44-8. 2013.

Sasaki, S. e R. A. Dampney. **Tonic cardiovascular effects of angiotensin II in the ventrolateral medulla**. *Hypertension*, v.15, n.3, Mar, p.274-83. 1990.

Sbh. **VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão**. *Revista Hipertensão*, v.13, n.1, 2010. 2010.

Schnabel, A., W. Kindermann, W. M. Schmitt, e cols. **Hormonal and metabolic consequences of prolonged running at the individual anaerobic threshold**. *Int J Sports Med*, v.3, n.3, Aug, p.163-8. 1982.

Schultz, R. L., E. L. Kullman, R. P. Waters, e cols. **Metabolic adaptations of skeletal muscle to voluntary wheel running exercise in hypertensive heart failure rats**. *Physiol Res*, v.62, n.4, Aug 21, p.361-9. 2013.

Schultz, R. L., J. G. Swallow, R. P. Waters, e cols. **Effects of excessive long-term exercise on cardiac function and myocyte remodeling in hypertensive heart failure rats**. *Hypertension*, v.50, n.2, Aug, p.410-6. 2007.

Sesoko, S., H. Muratani, S. Takishita, e cols. **Modulation of baroreflex function by angiotensin II endogenous to the caudal ventrolateral medulla**. *Brain Res*, v.671, n.1, Feb 6, p.38-44. 1995.

Seyedabadi, M., A. K. Goodchild e P. M. Pilowsky. **Differential role of kinases in brain stem of hypertensive and normotensive rats**. *Hypertension*, v.38, n.5, Nov, p.1087-92. 2001.

Shah, A., Y. B. Oh, S. H. Lee, e cols. **Angiotensin-(1-7) attenuates hypertension in exercise-trained renal hypertensive rats**. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, v.302, n.11, Jun 1, p.H2372-80. 2012.

Shinohara, K., Y. Hirooka, T. Kishi, e cols. **Reduction of nitric oxide-mediated gamma-amino butyric acid release in rostral ventrolateral medulla is involved in superoxide-induced sympathoexcitation of hypertensive rats**. *Circ J*, v.76, n.12, p.2814-21. 2012.

Silva, D. M., A. Gomes-Filho, V. C. Olivon, e cols. **Swimming training improves the vasodilator effect of angiotensin-(1-7) in the aorta of spontaneously hypertensive rat**. *J Appl Physiol*, v.111, n.5, Nov, p.1272-7. 2011.

Silva, L. C., M. A. Fontes, M. J. Campagnole-Santos, e cols. **Cardiovascular effects produced by micro-injection of angiotensin-(1-7) on vasopressor and vasodepressor sites of the ventrolateral medulla**. *Brain Res*, v.613, n.2, Jun 11, p.321-5. 1993.

- Simoës, H. G., C. S. G. Campbell, V. Baldissera, e cols. **Determinação do Limiar anaeróbio por meio de dosagens glicêmicas e lactacêmicas em testes de pista para corredores.** Rev Paulista de Educação Física, v.12, p.17-30. 1998.
- Simoës, H. G., C. S. Grubert Campbell, E. Kokubun, e cols. **Blood glucose responses in humans mirror lactate responses for individual anaerobic threshold and for lactate minimum in track tests.** Eur J Appl Physiol Occup Physiol, v.80, n.1, Jun, p.34-40. 1999.
- Soares, E. R., W. G. Lima, R. P. Machado, e cols. **Cardiac and renal effects induced by different exercise workloads in renovascular hypertensive rats.** Braz J Med Biol Res, v.44, n.6, Jun, p.573-82. 2011.
- Speth, R. C. e K. H. Kim. **Discrimination of two angiotensin II receptor subtypes with a selective agonist analogue of angiotensin II, p-aminophenylalanine6 angiotensin II.** Biochem Biophys Res Commun, v.169, n.3, Jun 29, p.997-1006. 1990.
- Strawn, W. B., C. M. Ferrario e E. A. Tallant. **Angiotensin-(1-7) reduces smooth muscle growth after vascular injury.** Hypertension, v.33, n.1 Pt 2, Jan, p.207-11. 1999.
- Stromberg, C., L. Naveri e J. M. Saavedra. **Nonpeptide angiotensin AT1 and AT2 receptor ligands modulate the upper limit of cerebral blood flow autoregulation in rats.** J Cereb Blood Flow Metab, v.13, n.2, Mar, p.298-303. 1993.
- Sved, A. F. e F. J. Gordon. **Amino Acids as Central Neurotransmitters in the Baroreceptor Reflex Pathway.** Am Physiol Soc, v.9, p.243-246. 1994.
- Sved, A. F., S. Ito e C. J. Madden. **Baroreflex dependent and independent roles of the caudal ventrolateral medulla in cardiovascular regulation.** Brain Res Bull, v.51, n.2, Jan 15, p.129-33. 2000.
- Svedahl, K. e B. R. Macintosh. **Anaerobic threshold: the concept and methods of measurement.** Can J Appl Physiol, v.28, n.2, Apr, p.299-323. 2003.
- Tagawa, T., M. A. Fontes, P. D. Potts, e cols. **The physiological role of AT1 receptors in the ventrolateral medulla.** Braz J Med Biol Res, v.33, n.6, Jun, p.643-52. 2000.
- Tallant, E. A., X. Lu, R. B. Weiss, e cols. **Bovine aortic endothelial cells contain an angiotensin-(1-7) receptor.** Hypertension, v.29, n.1 Pt 2, Jan, p.388-93. 1997.
- Taylor, A. D. e R. Bronks. **Electromyographic correlates of the transition from aerobic to anaerobic metabolism in treadmill running.** Eur J Appl Physiol Occup Physiol, v.69, n.6, p.508-15. 1994.
- Tegtbur, U., M. W. Busse e K. M. Braumann. **Estimation of an individual equilibrium between lactate production and catabolism during exercise.** Med Sci Sports Exerc, v.25, n.5, May, p.620-7. 1993.
- Tegtbur, U., H. Machold, H. Meyer, e cols. **[Determining the extent of intensive physical performance in patients with coronary heart disease].** Z Kardiol, v.90, n.9, Sep, p.637-45. 2001.
- Tipnis, S. R., N. M. Hooper, R. Hyde, e cols. **A human homolog of angiotensin-converting enzyme. Cloning and functional expression as a captopril-insensitive carboxypeptidase.** J Biol Chem, v.275, n.43, Oct 27, p.33238-43. 2000.

- Urata, H., B. Healy, R. W. Stewart, e cols. **Angiotensin II-forming pathways in normal and failing human hearts**. *Circ Res*, v.66, n.4, Apr, p.883-90. 1990.
- Valenti, V. E., C. Ferreira, A. Meneghini, e cols. **Avaliação da função barorreflexa em ratos jovens espontaneamente hipertensos**. *Arq Bras Cardiol*, v.92, n.3, p.205-209. 2009.
- Varagic, J., A. J. Trask, J. A. Jessup, e cols. **New angiotensins**. *J Mol Med*, v.86, n.6, Jun, p.663-71. 2008.
- Veras-Silva, A. S., K. C. Mattos, N. S. Gava, e cols. **Low-intensity exercise training decreases cardiac output and hypertension in spontaneously hypertensive rats**. *Am J Physiol*, v.273, n.6 Pt 2, Dec, p.H2627-31. 1997.
- Vickers, C., P. Hales, V. Kaushik, e cols. **Hydrolysis of biological peptides by human angiotensin-converting enzyme-related carboxypeptidase**. *J Biol Chem*, v.277, n.17, Apr 26, p.14838-43. 2002.
- Voltarelli, F. A., C. A. Gobatto e M. A. De Mello. **Determination of anaerobic threshold in rats using the lactate minimum test**. *Braz J Med Biol Res*, v.35, n.11, Nov, p.1389-94. 2002.
- Voltarelli, F. A., M. A. R. Mello e C. A. Gobatto. **Transição metabólica e teste do lactato mínimo em ratos: nova proposta de quantificação do esforço**. *Revista da Educação Física / UEM*, v.16, n.1, p.73-78. 2005.
- Voltarelli, F. A., W. M. S. Nunes, A. S. R. Silva, e cols. **Determinação do limiar anaeróbio em ratos obesas tratadas com glutamato monossódico (MSG)**. *Revista Logus*, v.11, p.84-92. 2003.
- Walther, T., N. Wessel, N. Kang, e cols. **Altered heart rate and blood pressure variability in mice lacking the Mas protooncogene**. *Braz J Med Biol Res*, v.33, n.1, Jan, p.1-9. 2000.
- Wang, D. S., H. H. Xie, F. M. Shen, e cols. **Blood pressure variability, cardiac baroreflex sensitivity and organ damage in experimentally hypertensive rats**. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, v.32, n.7, Jul, p.545-52. 2005.
- Wang, J., Y. J. Peng e D. N. Zhu. **Amino acids modulate the hypotensive effect of angiotensin-(1-7) at the caudal ventrolateral medulla in rats**. *Regul Pept*, v.129, n.1-3, Jul 15, p.1-7. 2005.
- Wasserman, K. e M. B. Mcilroy. **Detecting the Threshold of Anaerobic Metabolism in Cardiac Patients During Exercise**. *Am J Cardiol*, v.14, Dec, p.844-52. 1964.
- Weltman, A., C. M. Wood e C. J. Womack. **Catecholamine and blood lactate response to incremental rowing and running exercise**. *J Appl Physiol*, v.76, n.3, p.1144-1149. 1994.
- Whelton, S. P., A. Chin, X. Xin, e cols. **Effect of aerobic exercise on blood pressure: a meta-analysis of randomized, controlled trials**. *Ann Intern Med*, v.136, n.7, Apr 2, p.493-503. 2002.
- Whitebread, S., M. Mele, B. Kamber, e cols. **Preliminary biochemical characterization of two angiotensin II receptor subtypes**. *Biochem Biophys Res Commun*, v.163, n.1, Aug 30, p.284-91. 1989.

- Wollert, K. C. e H. Drexler. **The renin-angiotensin system and experimental heart failure**. Cardiovasc Res, v.43, n.4, Sep, p.838-49. 1999.
- Wong, P. C., S. D. Hart, A. M. Zaspel, e cols. **Functional studies of nonpeptide angiotensin II receptor subtype-specific ligands: DuP 753 (All-1) and PD123177 (All-2)**. J Pharmacol Exp Ther, v.255, n.2, Nov, p.584-92. 1990.
- Wright, J. W. e J. W. Harding. **Regulatory role of brain angiotensins in the control of physiological and behavioral responses**. Brain Res Brain Res Rev, v.17, n.3, Sep-Dec, p.227-62. 1992.
- Xu, P., S. Sriramula e E. Lazartigues. **ACE2/ANG-(1-7)/Mas pathway in the brain: the axis of good**. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, v.300, n.4, Apr, p.R804-17. 2011.
- Yamamoto, K., M. C. Chappell, K. B. Brosnihan, e cols. **In vivo metabolism of angiotensin I by neutral endopeptidase (EC 3.4.24.11) in spontaneously hypertensive rats**. Hypertension, v.19, n.6 Pt 2, Jun, p.692-6. 1992.
- Zha, Y. P., Y. K. Wang, Y. Deng, e cols. **Exercise training lowers the enhanced tonically active glutamatergic input to the rostral ventrolateral medulla in hypertensive rats**. CNS Neurosci Ther, v.19, n.4, Apr, p.244-51. 2013.
- Zhou, L. M., Z. Shi, J. Gao, e cols. **Angiotensin-(1-7) and angiotension II in the rostral ventrolateral medulla modulate the cardiac sympathetic afferent reflex and sympathetic activity in rats**. Pflugers Arch, v.459, n.5, Apr, p.681-8. 2010.
- Zucker, I. H., K. P. Patel, H. D. Schultz, e cols. **Exercise training and sympathetic regulation in experimental heart failure**. Exerc Sport Sci Rev, v.32, n.3, Jul, p.107-11. 2004.

ANEXO A

Tabelas das Avaliações Cardiovasculares, da Caracterização da Hipertensão Renovascular 2R1C e da Aptidão Aeróbia

Tabela 02: Valores basais de pressão arterial média (PAM, mmHg) e frequência cardíaca (FC, bpm) mensurados de forma direta em ratos submetidos ao exercício físico (Ex) ou sedentários (Sed), Sham e 2R1C

	Sham		2R1C	
	Sed (n=26)	Ex (n=36)	Sed (n=24)	Ex (n=34)
PAM (mmHg)	100,0 ± 1,0	101,0 ± 2,0	141,0 ± 4,0*	121,0 ± 3,0* #
FC (bpm)	356,0 ± 3,0	353,0 ± 4,0	374,0 ± 5,0*	358,0 ± 4,0#

Valores expressos em média ± EPM. *p<0,05 em comparação aos ratos Sham Sed. #p<0,05 em comparação ao grupo 2R1C Sed. (ANOVA seguida de Bonferroni).

Tabela 03: Valores do peso úmido dos rins (g/100g de massa corporal) em ratos submetidos ao exercício físico (Ex) ou sedentários (Sed) Sham e 2R1C

	Sham		2R1C	
	Sed (n=26)	Ex (n=36)	Sed (n=24)	Ex (n=34)
Rim Esquerdo	0,31±0,01	0,29±0,01	0,25±0,01*	0,19±0,02*
Rim Direito	0,31±0,01	0,29±0,01	0,35±0,01#	0,29±0,01

Valores expressos em média ± EPM. *p<0,05 em comparação aos respectivos rins direitos. #p<0,05 em comparação aos rins direitos dos grupos Sham treinado e sedentário. (ANOVA seguida de Bonferroni).

Tabela 04: Valores da massa (g/ 100g de massa corporal) do coração e do ventrículo esquerdo em ratos submetidos ao exercício físico (Ex) e sedentários (Sed) Sham e 2R1C

	Sham		2R1C	
	Sed (n=26)	Ex (n=36)	Sed (n=24)	Ex (n=34)
MRC	0,27±0,09	0,28±0,09	0,37±0,12*	0,28±0,09 [#]
MRVE	0,11±0,03	0,11±0,03	0,14±0,04*	0,11±0,03 [#]

Valores expressos em média ± EPM. MRC= massa relativa do coração, MRVE= massa relativa do ventrículo esquerdo. *p<0,05 em comparação aos ratos Sham Sed. [#]p<0,05 em comparação aos ratos 2R1C Sed (ANOVA seguida de Bonferroni).

Tabela 05: Valores de hiperlactacidemia (mmol/ L) após o teste de exaustão (saltos com 35% da massa corporal) do 6º ao 20º minuto em ratos submetidos ao exercício físico (Ex) ou sedentário (Sed) Sham e 2R1C

	Sham Sed (n=09)	Sham Ex (n=09)	2R1C Sed (n=10)	2R1C Ex (n=10)
Repouso	1,19 ± 0,36	1,06 ± 0,34	1,23 ± 0,35	1,12 ± 0,33
6º minuto	10,07 ± 1,06	7,10 ± 0,89*	11,21 ± 1,06	10,83 ± 1,04
8º minuto	10,55 ± 1,08	7,06 ± 0,89*	11,67 ± 1,08	11,16 ± 1,06
10º minuto	10,59 ± 1,08	7,34 ± 0,90*	11,80 ± 1,09	11,79 ± 1,09
12º minuto	11,04 ± 1,04	7,61 ± 0,92*	12,38 ± 1,11	12,28 ± 1,11
14º minuto	11,50 ± 1,13	7,83 ± 0,93*	12,73 ± 1,13	12,82 ± 1,13
16º minuto	11,07 ± 1,11	7,58 ± 0,92*	13,03 ± 1,14	12,89 ± 1,14
18º minuto	11,03 ± 1,11	6,98 ± 0,88*	12,24 ± 1,11	11,66 ± 1,08
20º minuto	10,57 ± 1,08	6,28 ± 0,84*	11,66 ± 1,08	10,66 ± 1,03

Valores expressos em média ± EPM. *p<0,05 em comparação aos ratos Sham Sed. (ANOVA seguida de Bonferroni).

Tabela 06: Valores de hiperglicemia (mmol/ L) após o teste de exaustão (saltos com 35% da massa corporal) do 6º ao 20º minuto em ratos submetidos ao exercício físico ou sedentário Sham e 2R1C

	Sham Sed (n=9)	Sham Ex (n=9)	2R1C Sed (n=10)	2R1C Ex (n=10)
Repouso	3,85 ± 0,14	3,15 ± 0,14	3,64 ± 0,14	3,44 ± 0,14
6º minuto	3,54 ± 0,15	3,03 ± 0,14	3,83 ± 0,15	3,58 ± 0,14
8º minuto	3,63 ± 0,15	2,77 ± 0,13	3,88 ± 0,15	3,66 ± 0,14
10º minuto	3,75 ± 0,15	2,90 ± 0,13	3,85 ± 0,15	3,72 ± 0,14
12º minuto	3,86 ± 0,15	2,98 ± 0,14	3,96 ± 0,15	3,82 ± 0,15
14º minuto	4,06 ± 0,16	3,22 ± 0,14	3,99 ± 0,15	3,86 ± 0,15
16º minuto	3,86 ± 0,15	3,11 ± 0,14	4,01 ± 0,15	3,86 ± 0,15
18º minuto	3,88 ± 0,16	3,00 ± 0,14	3,99 ± 0,15	3,77 ± 0,14
20º minuto	3,81 ± 0,15	2,64 ± 0,13	4,00 ± 0,15	3,68 ± 0,14

Valores expressos em média ± EPM. *p<0,05 em comparação aos ratos Sham Sed. (ANOVA seguida de Bonferroni).

Tabela 07: Lactato sanguíneo (mmol/ L) durante teste incremental de cargas crescentes de trabalho na natação em ratos submetidos ao exercício físico (Ex) e sedentário (Sed) Sham e 2R1C

Carga (Massa Corporal)	Sham Sed n=11	Sham Ex n=10	2R1C Sed n=09	2R1C Ex n=10
(0%) ^{14'} após teste de exaustão	12,3 ± 1,1	11,9 ± 1,1	13,6 ± 1,2	11,4 ± 1,1 [#]
1%	11,4 ± 1,0	11,6 ± 1,1	13,3 ± 1,2*	10,6 ± 1,0 [#]
1,5%	10,8 ± 1,0	11,0 ± 1,1	12,7 ± 1,2*	10,0 ± 1,0 [#]
2%	10,1 ± 1,0	10,6 ± 1,0	11,9 ± 1,2*	9,3 ± 1,0 [#]
2,5%	9,9 ± 0,9	10,2 ± 1,0	11,8 ± 1,1*	8,6 ± 0,9 ^{#*}
3%	9,6 ± 0,9	9,7 ± 1,0	12,4 ± 1,2*	8,9 ± 0,9 [#]
3,5%	10,5 ± 1,0	9,4 ± 1,0	13,1 ± 1,2*	9,8 ± 1,0 [#]
4%	11,4 ± 1,0	9,1 ± 1,0*	13,7 ± 1,2*	10,9 ± 1,0 [#]
4,5%	12,1 ± 1,1	9,6 ± 1,0*	13,9 ± 1,2*	10,7 ± 1,0 [#]
5%	13,1 ± 1,5	10,5 ± 1,0*	Não suportaram	12,0 ± 1,1 [#]

Valores expressos em média ± EPM. *p<0,05 em comparação aos ratos Sham Sed. [#]p<0,05 em comparação aos ratos 2R1C Sed. (ANOVA seguida de Bonferroni).

Tabela 08: Glicemia sanguínea (mmol/ L) durante teste incremental de cargas crescentes de trabalho na natação em ratos submetidos ao exercício físico (Ex) e sedentário (Sed) Sham e 2R1C

Carga (Massa Corporal)	Sham Sed	Sham Ex	2R1C Sed	2R1C Ex
	n=11	n=10	n=09	n=10
(0%) ^{14'} após teste de exaustão	4,42 ± 0,11	4,17 ± 0,11	4,76 ± 0,12	5,08 ± 0,12
1%	3,73 ± 0,11	4,00 ± 0,11	4,14 ± 0,12	4,04 ± 0,12
1,5%	3,47 ± 0,10	3,76 ± 0,10	3,45 ± 0,11	3,61 ± 0,11
2%	3,37 ± 0,10	3,50 ± 0,09	3,42 ± 0,11	3,54 ± 0,10
2,5%	3,18 ± 0,11	3,33 ± 0,10	3,21 ± 0,11	3,47 ± 0,10
3%	2,84 ± 0,11	3,11 ± 0,09	3,81 ± 0,10	4,26 ± 0,10
3,5%	3,25 ± 0,10	3,09 ± 0,10	4,14 ± 0,10	4,57 ± 0,12
4%	3,49 ± 0,10	3,07 ± 0,11	4,30 ± 0,12	4,72 ± 0,12
4,5%	3,80 ± 0,11	3,41 ± 0,10	Não suportaram	Não suportaram
5%	4,02 ± 0,11	3,97 ± 0,09	Não suportaram	Não suportaram

Valores expressos em média ± EPM. *p<0,05 em comparação aos ratos Sham Sed. #p<0,05 em comparação aos ratos 2R1C Sed. (ANOVA seguida de Bonferroni).

Tabela 09: Concentração do lactato sanguíneo (mmol/ L) na carga correspondente ao limiar de lactato e em cargas superiores ao limiar de lactato nos ratos Sham sedentários (Sed) e submetidos ao exercício físico (Ex).

	Sham Sed (n= 06)			Sham Ex (n= 06)		
	3,0%	3,5%	4,0%	4,0%	4,5%	5,0%
Repouso	1,6 ± 0,5	1,6 ± 0,5	1,6 ± 0,5	1,4 ± 0,5	1,5 ± 0,5	1,4 ± 0,5
5'	6,3 ± 1,0	6,4 ± 1,0	7,9 ± 1,1*	6,1 ± 1,0	6,1 ± 1,0	6,2 ± 1,0
10'	7,6 ± 1,1	8,5 ± 1,2	9,7 ± 1,3*	6,3 ± 1,0	7,2 ± 1,1	7,2 ± 1,1
15'	7,8 ± 1,1	10,0 ± 1,3	12,1 ± 1,4*	6,4 ± 1,1	9,0 ± 1,2 [#]	9,1 ± 1,2 [#]
20'	7,6 ± 1,1	11,3 ± 1,4*	13,2 ± 1,5*	6,4 ± 1,0	10,0 ± 1,3 [#]	11,4 ± 1,4 [#]
25'	7,6 ± 1,1	14,2 ± 1,5*	15,1 ± 1,6*	6,3 ± 1,0	12,1 ± 1,4 [#]	13,8 ± 1,5 [#]

Valores expressos em média ± EPM. *p<0,05 em comparação a carga de 3,0% da massa corporal nos ratos Sham Sed. #p<0,05 em comparação a carga de 4,0% da massa corporal nos ratos Sham Ex. (ANOVA seguida de Bonferroni).

Tabela 10: Concentração do lactato sanguíneo (mmol/ L) na carga correspondente ao limiar anaeróbio e em cargas superiores nos ratos 2R1C sedentários (Sed) e submetidos ao exercício físico (Ex).

	2R1C Sed (n= 05)			2R1C Ex (n= 05)		
	2,5%	3,0%	3,5%	2,5%	3,0%	3,5%
Repouso	1,3 ± 0,5	1,3 ± 0,5	1,3 ± 0,5	1,5 ± 0,5	1,2 ± 0,4	1,5 ± 0,5
5'	7,9 ± 1,1	8,6 ± 1,2	8,1 ± 1,2	8,0 ± 1,2	6,0 ± 1,0	7,1 ± 1,1
10'	12,9 ± 1,5	10,8 ± 1,3	11,0 ± 1,4	10,8 ± 1,3	8,9 ± 1,2	10,2 ± 1,3
15'	12,8 ± 1,5	13,9 ± 1,5	15,1 ± 1,6	12,4 ± 1,4	12,6 ± 1,4	13,3 ± 1,5
20'	12,8 ± 1,5	14,4 ± 1,5	16,6 ± 1,7*	12,9 ± 1,5	14,0 ± 1,5	15,1 ± 1,6
25'	12,8 ± 1,5	16,5 ± 1,7*	18,2 ± 1,7*	12,8 ± 1,5	15,1 ± 1,6	17,1 ± 1,7#

Valores expressos em média ± EPM. *p<0,05 em comparação a carga de 2,5% da massa corporal nos ratos 2R1C Sed e 2R1C Ex. #p<0,05 em comparação a carga de 3,0% da massa corporal nos ratos 2R1C Sed e 2R1C Ex. (ANOVA seguida de Bonferroni).

ANEXO B

Tabelas dos Efeitos sobre a PAM e FC induzidos por microinjeções na RVLM

Tabela 11: Alterações na pressão arterial média (Δ PAM, mmHg) após microinjeção de salina (100 nL), Ang-(1-7) (40 pmol) e Ang II (40 pmol) na RVLM de ratos submetidos ao exercício físico (Ex) Sham x e 2R1C Ex.

	Sham Ex	n	2R1C Ex	n
Salina	4,6 \pm 0,8	11	4,3 \pm 0,7	09
Ang-(1-7)	11,1 \pm 1,8*	5	14,3 \pm 2,7*	4
Ang II	11,4 \pm 1,2*	6	11,0 \pm 1,8*	5

Valores expressos em média \pm EPM. * $p < 0,05$ em comparação a salina (ANOVA two-way seguido de Bonferroni).

Tabela 12: Alterações na frequência cardíaca (Δ FC, bpm) após microinjeção de salina (100 nL), Ang-(1-7) (40 pmol) e Ang II (40 pmol) na RVLM de ratos submetidos ao exercício físico (Ex) Sham Ex e 2R1C Ex.

	Sham Ex	n	2R1C Ex	n
Salina	-3,6 \pm 1,6	11	0,5 \pm 1,4	09
Ang-(1-7)	-4,8 \pm 2,4	5	-1,9 \pm 1,4	4
Ang II	-8,8 \pm 3,9	6	0,6 \pm 2,8	5

Valores expressos em média \pm EPM. ANOVA two-way seguido de Bonferroni.

Tabela 13: Alterações na pressão arterial média (Δ PAM, mmHg) após microinjeção de salina (100 nL), A-779 (50 pmol) e losartana (86 pmol) na RVLM de ratos submetidos ao exercício físico (Ex) Sham Ex e 2R1C Ex.

	Sham Ex	n	2R1C Ex	n
Salina	4,6 ± 0,8	11	4,3 ± 0,7	09
A-779	7,6 ± 0,7	5	6,0 ± 1,4	4
Losartana	6,1 ± 0,5	6	7,6 ± 1,8	5

Valores expressos em média ± EPM. * $p < 0,05$ em comparação a salina (ANOVA two-way seguido de Bonferroni).

Tabela 14: Alterações na frequência cardíaca (Δ FC, bpm) após microinjeção de salina (100 nL), A-779 (50 pmol) e losartana (86 pmol) na RVLM de ratos submetidos ao exercício físico (Ex) Sham x e 2R1C Ex.

	Sham Ex	n	2R1C Ex	n
Salina	-3,6 ± 1,6	11	0,5 ± 1,4	09
A-779	-0,7 ± 1,2	5	4,3 ± 4,3	4
Losartana	-0,1 ± 4,8	6	5,1 ± 2,5	5

Valores expressos em média ± EPM. ANOVA two-way seguido de Bonferroni.

Tabela 15: Alterações na pressão arterial média (Δ PAM, mmHg) produzidas pelas microinjeções de Ang-(1-7) (40 pmol) na RVLM antes e após a microinjeção do A-779 (50 pmol) na RVLM de ratos submetidos ao exercício físico (Ex) Sham x e 2R1C Ex.

	Sham Ex	2R1C Ex
Antes do A-779	11,1 \pm 1,8	14,3 \pm 2,7
5 min após A-779	3,9 \pm 0,9*	6,4 \pm 0,9c
15 min após A-779	4,4 \pm 0,5*	4,8 \pm 1,2*
30 min após A-779	5,1 \pm 0,4*	6,5 \pm 0,9*
n	5	4

Valores expressos em média \pm EPM. min = minutos após microinjeção de A-779. *p<0,05 em comparação a Ang-(1-7) microinjetada antes do A-779 (ANOVA two-way seguido de Bonferroni).

Tabela 16: Alterações na frequência cardíaca (Δ FC, bpm) produzidas pelas microinjeções de Ang-(1-7) (40 pmol) na RVLM antes e após a microinjeção do A-779 (50 pmol) na RVLM de ratos submetidos ao exercício físico (Ex) Sham Ex e 2R1C Ex.

	Sham Ex	2R1C Ex
Antes do A-779	-4,8 \pm 2,4	-1,9 \pm 1,4
5 min após A-779	1,1 \pm 1,9	-2,6 \pm 3,4
15 min após A-779	-5,8 \pm 2,3	-2,9 \pm 1,8
30 min após A-779	-4,9 \pm 2,2	0,7 \pm 3,4
n	5	4

Valores expressos em média \pm EPM. min = minutos após microinjeção de A-779. ANOVA two-way seguido de Bonferroni.

Tabela 17: Alterações na pressão arterial média (Δ PAM, mmHg) produzidas pelas microinjeções de Ang II (40 pmol) na RVLM antes e após a microinjeção de losartana (86 pmol) na RVLM de ratos submetidos ao exercício físico (Ex) Sham Ex e 2R1C Ex.

	Sham Ex	2R1C Ex
Antes da losartana	11,4 \pm 1,2	11,0 \pm 1,8
5 min após losartana	3,1 \pm 0,6*	4,1 \pm 0,9*
15 min após losartana	5,3 \pm 1,3*	4,7 \pm 1,4*
30 min após losartana	6,0 \pm 0,3*	3,4 \pm 1,2*
n	6	5

Valores expressos em média \pm EPM. min = minutos após microinjeção de losartana. *p<0,05 em comparação a Ang II microinjetada antes da losartana (ANOVA two-way seguido de Bonferroni).

Tabela 18: Alterações na frequência cardíaca (Δ FC, bpm) produzidas pelas microinjeções de Ang II (40 pmol) na RVLM antes e após a microinjeção de losartana (86 pmol) na RVLM de ratos submetidos ao exercício físico (Ex) Sham Ex e 2R1C Ex.

	Sham Ex	2R1C Ex
Antes da losartana	-6,8 \pm 3,9	0,6 \pm 2,8
5 min após losartana	-1,0 \pm 1,3	-0,03 \pm 1,7
15 min após losartana	-1,5 \pm 2,7	2,3 \pm 2,1
30 min após losartana	-2,2 \pm 1,3	0,9 \pm 1,5
n	6	5

Valores expressos em média \pm EPM. min = minutos após microinjeção da losartana. ANOVA two-way seguido de Bonferroni.