

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

**Alterações de Parâmetros Cardiovasculares e
Envolvimento dos Receptores AT₂ na CVLM sobre a
Pressão Arterial, induzidas por Atividade Física de
Baixa Intensidade em Ratos com Hipertensão
Renovascular**

Míriam Carmo Rodrigues

**Ouro Preto - MG
2007**

Míriam Carmo Rodrigues

**Alterações de Parâmetros Cardiovasculares e
Envolvimento dos Receptores AT₂ na CVLM sobre a
Pressão Arterial, induzidas por Atividade Física de
Baixa Intensidade em Ratos com Hipertensão
Renovascular**

Orientadora: Andréia Carvalho Alzamora

Co-orientadora: Raquel do Pilar Machado

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação de Ciências Biológicas do Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Ouro Preto, como parte integrante dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Ciências Biológicas, área de concentração Bioquímica Estrutural e Fisiológica.

Trabalho desenvolvido no Laboratório de Hipertensão, Laboratório de Nutrição Experimental e Laboratório de Imunopatologia da Universidade Federal de Ouro Preto com auxílio financeiro da CAPES, PROPP-UFOP, PRONEX-CNPq-FAPEMIG.

**Dedico este trabalho à minha família e a Deus,
fontes inesgotáveis de Vida e Amor.**

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que colaboraram para a realização deste trabalho, em especial:

À Prof^a. Dr^a. Andréia Carvalho Alzamora pela oportunidade, orientação e pelo voto de confiança em meu trabalho. Na correria do dia-a-dia muitas coisas se perdem e ficam mesmo por dizer, por isso quero registrar minha gratidão sincera pelo estímulo, bem a seu modo, que muitas vezes para mim era compreendido muito mais como exigências, mas que foram cruciais para levarmos adiante este trabalho que pelas dificuldades e adversidades da vida pensei muitas vezes em interromper, abandonar ou mesmo ser incapaz de concluir.

À Prof^a. Dr^a. Raquel do Pilar Machado, pelos exemplos de perseverança, luta pela vida e extrema dedicação à educação e ao ensino público.

À Prof^a. Dr^a. Maria José Campagnole-Santos, ao Prof. Dr. Robson Santos e a todos do Laboratório de Fisiologia e Biofísica da Universidade Federal de Minas Gerais, agradeço sinceramente o carinho e respeito com os quais sempre fui recebida e aos valiosos ensinamentos compartilhados.

À Prof^a. Dr^a. Cláudia Martins Carneiro, à Técnica Maria e a todos do Laboratório de Imunopatologia, agradeço a dedicação e paciência com os quais conseguiram transmitir conhecimentos tão valiosos e aos mesmo tempo de extrema importância para a conclusão deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Marcelo Estáquio Silva, Ao Técnico Jair e ao Bolsista Fabrício bem como todos do Laboratório de Nutrição Experimental, agradeço sinceramente à dedicação e zelo com os quais sempre receberam a mim e a todos deste laboratório.

Às Professoras Dr^a. Patrícia Ferreira, Dr^a. Sordaini Maria Caligorne e Dr^a. Cristiane Rocha Fagundes Moura, pelo apoio e incentivo na realização deste trabalho.

A Todos os Professores do Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas, agradeço a oportunidade de aprendizado, o respeito, diálogo e o convívio cordial e alegre seja nos corredores ou mesmo, nas muitas vezes, que precisei recorrer aos laboratórios, seja para esclarecimentos técnicos ou mesmo para buscar auxílio na execução de alguma atividade experimental.

Aos financiadores deste trabalho: CNPq-PRONEX-FAPEMIG, CAPES, PROPP-NUPEB-UFOP.

À Universidade Federal de Ouro Preto e ao Ensino Público, sem os quais nunca teria concluído este trabalho.

A todos os colegas do Laboratório de Hipertensão: Amanda, Carolina, Elton, Enyara, Karina, Uberdan, Edivaldo, Vinícius (*in memorian*), Giselle, Luiza Michelle, Janete, Gilberto, Everton e a todos que mesmo por um curto tempo estiveram conosco auxiliando de alguma forma para a concretização deste trabalho. Gostaria de agradecer de modo especial à minha querida amiga e colega de mestrado Analina, pelo carinho e pelo convívio agradável durante estes anos de trabalho. Gostaria de agradecer também aos queridos colegas José Luiz e Sara que com dedicação, desprendimento e busca extremada pelo saber tornaram este trabalho possível.

Agradeço profundamente à minha família. Aos meus queridos pais e irmãos, exemplos de persistência, perseverança e fontes de alegria e amor. Às queridas Luiza e Yasminn, pela doçura e carinho.

Agradeço também de forma especial e carinhosa à Ines♀☾ível República Quarto Crescente, suas moradoras e ex-alunas, pela amizade sincera e pelo apoio incondicional.

Às amigas de sempre Boka e Lesa, pela convivência e amizade.

Ao Lu e ao Timóteo, por me mostrarem que o verdadeiro amor vem logo após o olhar, passa pelo coração e muitas vezes perde tempo na cabeça procurando respostas e conjecturando o que vai além de qualquer paradigma... daí, se agita e muda tudo na gente, mas só encontra conforto e abrigo lá longe, além, bem perto do fundo da alma...

Gostaria de agradecer, em fim, a todas as pessoas infinitamente bondosas e especiais que Deus cuidadosamente colocou no meu caminho até aqui e que seria impossível colocar o nome de todas elas. Vocês estarão para sempre no meu coração, na minha lembrança e nas minhas orações.

Finalmente, agradeço aos animais experimentais que com inocência sacrificam suas vidas pela ciência.

RESUMO

A atividade física de baixa intensidade tem sido utilizada como tratamento coadjuvante e não farmacológico da hipertensão arterial. O bulbo ventrolateral caudal (CVLM) atua promovendo inibição sobre a área ventrolateral rostral (RVLM). Na hipertensão parece haver uma inabilidade dos neurônios da CVLM em contrabalancear o aumento da atividade pressora intrínseca dos neurônios da RVLM. O modelo experimental de hipertensão renovascular 2R1C caracteriza-se por apresentar altos níveis de renina e angiotensina II (Ang II). Neste estudo avaliamos o envolvimento do sistema renina angiotensina (SRA) no controle da pressão arterial (PA), na sensibilidade da bradicardia reflexa e a reatividade dos neurônios da CVLM para Ang II (100 nL de uma solução 380 μ M) e para o antagonista específico de receptor de Ang II, AT₂, PD123319 (100 nL de uma solução 678 μ M) em ratos sedentários ou ativos normotensos e com hipertensão renovascular (2R1C).

Ratos Fisher (150 a 200 g) foram anestesiados com cetamina (50 mg/ kg, ip) e xilazina (5 mg/ kg, ip) para produção da hipertensão 2R1C ou fictícia (Sham) e foram separados em dois grupos, sedentários e submetidos à atividade física aeróbica de baixa intensidade (natação) por quatro semanas com 1 hora de duração, 5 dias na semana. A PA foi mensurada durante as quatro semanas de treino tanto nos animais ativos como nos sedentários através do método de pletismografia de cauda. 30 dias após as cirurgias, os animais 2R1C e Sham (sedentários e ativos) foram anestesiados com uretana (1,2 g/ kg, ip), posicionados em aparelho estereotático para exposição do bulbo e instrumentados para registro da pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC). A sensibilidade da bradicardia reflexa foi avaliada através da injeção (i.v.) de fenilefrina. Ao final dos experimentos os animais eram sacrificados por decaptação e coletados cérebro, rins, coração e músculos. Uma parte destes órgãos era pesada (peso seco corrigido pela massa corpórea do animal) e outra parte era enviada para análise histológica.

Os valores de PA avaliados por pletismografia de cauda mostraram que a PA dos ratos 2R1C sedentários (105 ± 2 mmHg, n=11) e 2R1C ativos (118 ± 4 mmHg, n=17) foram significativamente superiores aos dos animais Sham sedentários (93 ± 3 mmHg, n=12) já na primeira semana após a realização das cirurgias (2R1C e Sham) e também durante a segunda e terceira semanas seguintes. Na quarta semana após a realização das cirurgias os valores de PA dos animais hipertensos sedentários (153 ± 6 mmHg, n=11) e ativos (129 ± 4 mmHg, n=17) foram superiores aos apresentados pelos animais Sham sedentários (103 ± 3 mmHg, n=12). Porém, no grupo 2R1C ocorreu uma redução significativa entre os valores de PA no grupo ativo quando comparados aos animais hipertensos sedentários.

O percentual de redução do rim clipado foi semelhante entre os ratos 2R1C sedentários ($-27 \pm 7 \%$, $n=5$) e os ratos 2R1C ativos ($-39 \pm 9 \%$, $n=8$) e maiores em relação aos animais Sham. A análise histológica das estruturas renais do rim esquerdo (clipado) mostra que as alterações patológicas como esclerose glomerular e inflamação presentes no grupo Sham sedentário foram reduzidas no grupo Sham ativo. Já os ratos 2R1C ativos apresentaram congestão, degeneração tubular focal, fibrose, inflamação e dilatação tubular, reduzidos em relação ao grupo 2R1C sedentários. Com relação à análise histológica do rim direito (não-clipado), no grupo Sham ativo, foi observada redução da congestão, esclerose glomerular e inflamação e um aumento da degeneração tubular focal e dilatação tubular quando comparado com os animais do grupo Sham sedentário. De forma semelhante, no grupo 2R1C ativo houve aumento da degeneração tubular focal, esclerose glomerular e inflamação e redução na congestão e fibrose quando comparamos com os animais do grupo 2R1C sedentários.

O peso seco do coração dos animais dos grupos 2R1C (sedentário e ativo) e Sham ativo foram estatisticamente similares e maiores do que o peso seco do coração dos animais Sham sedentários. Porém, foi observado um aumento significativo do peso seco dos ventrículos nos animais 2R1C sedentários e ativos que não ocorreu nos ratos Sham ativos. A análise histológica das estruturas cardíacas mostrou uma redução na degeneração dos cardiomiócitos e um espessamento excêntrico da parede ventricular nos ratos Sham ativos quando comparados com os animais Sham sedentários. No grupo 2R1C ativo foi observada uma redução no espessamento da parede ventricular e vascular e uma redução na fibrose e um aumento na degeneração e inflamação ventricular focal em comparação aos ratos 2R1C sedentários.

Os ratos 2R1C sedentários apresentaram ingestão aumentada de água até a quarta semanas após a cirurgia, sendo que atividade física reduziu esta ingestão na quarta semana da cirurgia (2R1C ativos). Já, os animais do grupo Sham ativo apresentaram ingestão aumentada de água somente durante a primeira e segunda semanas de natação. Os níveis séricos de uréia foram significativamente maiores nos animais ativos (Sham e 2R1C).

A PAM basal dos ratos 2R1C sedentários ($161 \pm 13,5$ mmHg; $n=5$) foi significativamente maior que a PAM basal dos ratos Sham sedentários ($105 \pm 4,3$ mmHg; $n=6$). O exercício físico reduziu significativamente a PAM no grupo 2R1C ativo (127 ± 6 mmHg; $n=7$) sendo que estes valores foram estatisticamente diferentes da PAM basal dos ratos 2R1C sedentários e Sham (sedentários e ativos). Os valores basais de FC não foram significativamente diferentes no grupo Sham ativo em comparação aos ratos Sham sedentários (400 ± 13 bpm; $n=6$). Contudo, no grupo 2R1C ativo, a FC basal (375 ± 8 bpm;

n=7) foi significativamente menor que a FC basal no grupo 2R1C sedentário (407 ± 12 bpm; n=5).

A bradicardia reflexa nos ratos 2R1C sedentários foi significativamente menor em comparação aos ratos Sham sedentários ($0,36 \pm 0,07$ ms/ mmHg, n=6). Não houve diferença significativa na bradicardia reflexa nos ratos Sham (ativos ou sedentários). Ao contrário, no grupo 2R1C ativo houve um aumento significativo na bradicardia reflexa ($0,2 \pm 0,03$ ms/ mmHg, n=7) em comparação aos ratos 2R1C sedentários ($0,09 \pm 0,03$ ms/ mmHg; n=5). A sensibilidade barorreflexa no grupo 2R1C ativo foi similar ao grupo Sham ativo ($0,33 \pm 0,03$ ms/ mmHg, n=7).

A Ang II microinjetada na CVLM induziu uma diminuição significativa da PAM nos grupos 2R1C similar à observada no grupo Sham (-13 ± 1 mmHg, n=6; ratos sedentários e -13 ± 2 mmHg, n=7; ratos ativos). Surpreendentemente, o antagonista de receptores AT_2 para Ang II, PD123319, na CVLM produziu efeito hipotensor nos ratos 2R1C sedentários (-10 ± 1 mmHg) significativamente diferentes em comparação a microinjeções de salina (-5 ± 1 mmHg, n=5). De forma diferente, em ratos 2R1C ativos o efeito depressor do PD123319 na CVLM foi similar ao observado após microinjeção de salina. No grupo Sham (sedentário e ativo) o efeito hipotensor produzido pelo PD123319 na CVLM foi similar ao efeito produzido pela salina. O efeito hipotensor da Ang II na CVLM foi bloqueado pela microinjeção do PD123319 na CVLM em todos os grupos.

Os resultados de nosso estudo mostram que a atividade física aeróbica de baixa intensidade provoca uma diminuição na PAM basal, restaura a bradicardia barorreflexa e não altera a responsividade à Ang II na CVLM em ratos com hipertensão 2R1C. Nossos dados, por outro lado, mostram alterações na responsividade do receptor AT_2 na CVLM que parecem estar envolvidas nos efeitos cardiovasculares da atividade física de baixa intensidade e importantes vias do SRA que podem participar na homeostase cardiovascular e na adaptação do exercício físico sobre a hipertensão renovascular.

ABSTRACT

Low intensity physical activity has been used as a non-pharmacological treatment for hypertension. The caudal ventrolateral medulla (CVLM) represents the major tonic inhibitory afference to the rostral ventrolateral medulla (RVLM). Regarding hypertensive states, CVLM neurons seem to be inefficient in counteracting the increased intrinsic pressor activity of the RVLM neurons. The 2K1C renovascular hypertensive experimental model exhibit high plasmatic levels of renin and angiotensin II (Ang II). The present study aimed and evaluated the involvement of the renin-angiotensin system (RAS) in the blood pressure (BP) control mechanisms, in the sensitivity of the baroreflex bradycardia and in the reactivity of the CVLM neurons to Ang II (40 ng) and to the selective AT₂ receptor antagonist PD123319 (50 ng) in sedentary or trained normotensive or hypertensive (2K1C).

Fisher rats (weighting 150 to 200 g) were anesthetized by a mixture of Ketamine (50 mg/ Kg, i.p.) and xylazine (5 mg/ Kg, i.p.) for the placement of the silver clip around the left renal artery or for Sham surgery and were separated in two groups: sedentary or low intensity trained (swimming) one hour per day, five days per week, during four weeks. The BP was measured in trained and sedentary animals every training day through tail cuff method. 30 days after the surgeries, the 2K1C and Sham animals (sedentary and trained) were anesthetized with urethane (1.2 g/ Kg, i.p.), placed onto a stereotaxic apparatus, had the medulla exposed and were instrumented for mean arterial pressure (MAP) and heart rate (HR) measurements. The baroreflex bradycardia sensitivity was assessed through i.v. bolus injection of phenylephrine. At the end of the experiments the animals underwent decapitation and had the brain, kidneys and hearts collected. Some of these organs were weightened (dry organ weight/ body weight) and another part was sent for histological analysis.

The tail cuff method showed that the 2K1C sedentary (105 ± 2 mmHg, n=11) and 2K1C trained group (118 ± 4 mmHg, n=17) presented higher BP levels when compared to the sedentary Sham group (93 ± 3 mmHg, n=12) after the first week after surgery and on the second and third weeks as well. On the fourth week after surgeries the BP levels of the sedentary hypertensive (153 ± 6 mmHg, n=11) and trained groups (129 ± 4 mmHg, n=17) were higher in comparison to the Sham sedentary group (103 ± 3 mmHg, n=12). However, in the 2K1C group we observed a significative reduction in the BP levels of the trained group in comparison to the trained hypertensive group. The percentage of mass reduction in the clipped kidney were similar among 2K1C sedentary (-27 ± 7 %, n=5) and 2K1C trained (-39 ± 9 %, n=8) groups and increased when compared to Sham groups. The histological analysis showed that the pathological changes (such as glomerular sclerosis and inflammation) of the clipped (left) kidney of Sham sedentary animals appear to be reduced

in the Sham trained group. Meanwhile, the 2K1C trained rats presented congestion, tubular focal degeneration, fibrosis, inflammation and tubular dilation reduced in comparison to the sedentary 2K1C rats. Regarding the histological analysis of the non-clipped kidney (right), we observed reduced congestion, glomerular sclerosis and inflammation and increased focal tubular degeneration and tubular dilation in the Sham trained group in comparison to the Sham sedentary group.

The dry heart weight from 2K1C animals (sedentary and trained) were statistically similar and higher than the dry heart weight from sham sedentary animals. However, it was observed an increased ventricular mass of the hearts of 2K1C sedentary and trained animals that has not occurred to the ventricles of Sham trained animals. The histological analysis of the cardiac structures showed a reduction in the cardiac muscle cells degeneration and eccentric ventricular wall thickening in sham trained in comparison to sham sedentary animals. It was also observed that in the 2K1C trained group a reduction in the ventricular and vascular wall thickening, a reduction in the fibrosis and increased focal ventricular degeneration and inflammation when compared to 2K1C sedentary group.

Regarding water consumption, 2K1C sedentary animals presented an increased ingestion until the fourth week after surgery; while the 2K1C trained animals reduced the water ingestion in the fourth week after surgery. The Sham trained animals presented an increased ingestion of water increased only during the first and second weeks of swimming. The urea serum levels were significantly higher in trained animals (Sham and 2K1C).

The basal MAP levels of 2K1C sedentary group was significantly higher compared to Sham sedentary group (161 ± 13.5 mmHg; n=5 vs 105 ± 4.3 mmHg; n=6, respectively). The physical training significantly reduced the MAP levels of the 2K1C trained group (127 ± 6 mmHg; n=7) and these values were statistically different from 2K1C sedentary and Sham (trained and sedentary) groups. The basal HR values of the Sham trained group (375 ± 8 bpm; n=7) were not significantly different from the sham sedentary group (400 ± 13 bpm; n=6). Nevertheless, the basal HR of the 2K1C trained group were significantly reduced when compared to 2K1C sedentary group (407 ± 12 bpm; n=5).

The baroreflex bradycardia was significantly reduced in the 2K1C sedentary group in comparison to the Sham sedentary group (0.36 ± 0.07 ms/ mmHg, n=6). There were no significant differences in the baroreflex bradycardia among Sham (sedentary and trained) groups. On the other hand, 2K1C trained group presented an increased baroreflex bradycardia in comparison to 2K1C sedentary animals (0.2 ± 0.03 ms/ mmHg, n=7 vs 0.09 ± 0.03 ms/ mmHg; n=5, respectively). The baroreflex sensitivity measured in the 2K1C trained group was similar to that observed in the 2K1C sedentary rats.

The microinjection of Ang II into the CVLM was able to reduce the MAP of 2K1C groups to the levels observed in the Sham groups (-13 ± 1 mmHg, n=6; sedentary and $-13 \pm$

2 mmHg, n=7; trained). Surprisingly, the microinjection of the selective AT₂ receptor antagonist, PD123319, into the CVLM produced a hypotensive effect in the 2K1C sedentary group (-10 ± 1 mmHg), that was significantly different from the vehicle microinjections into the same site (-5 ± 1 mmHg, n=5). In a different fashion, 2K1C trained rats presented a hypotensive effect in response to the PD123319 microinjection into the CVLM that was similar to that observed after the saline microinjection. The hypotensive effect in response to microinjection of Ang II into the CVLM was blunted by the prior PD123319 microinjection into the CVLM in all groups tested.

The results of the present study showed that low-intensity physical activity, that is effective in reducing high BP and in restoring the sensitivity of the baroreflex bradycardia, does not induce changes in the responsiveness to Ang II at CVLM of normotensive or hypertensive, 2K1C rats. Concerning the later results, on the other hand, changes in the responsiveness to AT₂ related stimuli at the CVLM appears to be involved in the cardiovascular effect of low-intensity physical activity and add new and significant insights into RAS mechanisms involved in cardiovascular homeostasis and in its adaptation to exercise in renovascular hypertension.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Figura ilustrativa da cirurgia para produção da hipertensão 2R1C	25
Figura 2 – Protocolo de atividade física utilizado	26
Figura 3 – Foto ilustrativa do sistema de pletismografia de cauda	27
Figura 4 – Esquema utilizado para a obtenção do Índice de Sensibilidade do Barorreflexo.....	30
Figura 5 – Demonstração do local de realização das microinjeções na CVLM	31
Figura 6 – Fotos ilustrativas dos músculos sóleo e bíceps	32
Figura 7 – Protocolo experimental para a avaliação da bradicardia reflexa	36
Figura 8 – Protocolo experimental para a avaliação dos efeitos cardiovasculares produzidos pela microinjeção de Ang II e PD123319 na CVLM	37
Figura 9 - PA mensurada através de pletismografia de cauda em ratos acordados (Sham e 2R1C, sedentários e ativos) na 1 ^a , 2 ^a , 3 ^a e 4 ^a semana após as cirurgias (Sham e 2R1C).....	40
Figura 10 - Ingestão hídrica (ml) em ratos (Sham e 2R1C, sedentários e ativos) na 1 ^a , 2 ^a , 3 ^a e 4 ^a semana após as cirurgias (Sham e 2R1C)	42
Figura 11 - Peso corporal (g) de ratos (Sham e 2R1C, sedentários e ativos) na 1 ^a , 2 ^a , 3 ^a e 4 ^a semana após as cirurgias (Sham e 2R1C)	44
Figura 12 - Fotos ilustrativas dos rins de ratos Sham e 2R1C, sedentários e ativos, 30 dias após as cirurgias (Sham e 2R1C)	47
Figura 13 - Alterações do peso seco dos rins direito (não-clipado) e rins esquerdo (clipado) (g/ 100g de peso corporal) em ratos Sham e 2R1C, sedentários e ativos	48
Figura 14 - % de redução do peso seco do rim esquerdo (clipado) (g/ 100g de peso corporal) de ratos Sham e 2R1C, sedentários e ativos	49
Figura 15 - Histologia do rim esquerdo (clipado) e do rim direito (não-clipado) de ratos Sham e 2R1C, sedentários e ativos	50
Figura 16 - Fotomicrografias da região medular do rim esquerdo (clipado) de ratos pertencentes aos grupos Sham e 2R1C, sedentários e ativos	51
Figura 17 – Fotomicrografias da região cortical do rim direito (não-clipado) de ratos pertencentes aos grupos Sham e 2R1C, sedentários e ativos	52
Figura 18 - Alterações no peso seco do coração, ventrículos e átrios (g/ 100g de peso corporal) de ratos Sham e 2R1C, sedentários e ativos	54
Figura 19 - Histologia do coração de ratos Sham e 2R1C, sedentários e ativos	55

Figura 20 - Fotografias do coração de ratos pertencentes aos grupos Sham e 2R1C, sedentários e ativos	56
Figura 21 - Fotomicrografias do miocárdio de ratos pertencentes aos grupos Sham e 2R1C, sedentários e ativos	57
Figura 22 - Fotomicrografias do miocárdio de ratos pertencentes aos grupos Sham e 2R1C, sedentários e ativos	58
Figura 23 - Valores de PA na quarta semana após a cirurgia (Sham e 2R1C, sedentários e ativos) medida de forma indireta pela pletismografia, no início e ao término do experimento.....	61
Figura 24 - Registro típico de PAM, PAP e FC basais de um rato Sham e 2R1C, sedentário e ativo	62
Figura 25 – Valores basais de PAM e FC, basais, de ratos Sham e 2R1C, sedentários e ativos	63
Figura 26 - Alterações na PAM produzidas por injeções intravenosas de Ang II, PD123319 e salina em ratos Sham e 2R1C, sedentários e ativos	65
Figura 27 - Alterações no índice de sensibilidade da bradicardia barorreflexa em ratos Sham e 2R1C, sedentários e ativos	68
Figura 28 - Alterações reflexas na FC em ratos Sham e 2R1C, sedentários e ativos.....	68
Figura 29 - Registros típicos das alterações de PAP, PAM e FC produzidas pelas microinjeções de Ang II, PD123319 e Salina, na CVLM de um rato 2R1C e Sham, sedentário e ativo	70
Figura 30 - Alterações na PAM e FC produzidas por microinjeções de salina, Ang II e PD123319 na CVLM em ratos Sham e 2R1C, sedentários e ativos	71
Figura 31 - Alterações na PAM produzidas por microinjeções na CVLM de Ang II antes e 5, 15 e 30 min após microinjeções de PD123319 em ratos Sham e 2R1C, sedentários e ativos.....	74
Figura 32 - Alterações na FC produzidas por microinjeções na CVLM de Ang II antes e 5, 15 e 30 min após microinjeções de PD123319 em ratos Sham e 2R1C, sedentários e ativos.....	75
Figura 33 - Fotografia e diagrama da superfície ventral do bulbo ilustrando a localização do centro das as microinjeções	76

LISTA DE TABELAS

Tabela I: Valores da pressão arterial (mmHg) mensurada através da pletismografia de cauda em ratos Sham e 2R1C, sedentários e ativos	40
Tabela II: Valores da ingestão hídrica (ml) avaliados por quatro semanas após cirurgias em ratos Sham e 2R1C, sedentários e ativos	42
Tabela III: Valores do peso corporal (g) avaliados por quatro semanas após cirurgias em ratos Sham e 2R1C, sedentários e ativos	44
Tabela IV: Valores do peso dos rins (g/ 100g do peso corporal) em ratos Sham e 2R1C, sedentários e ativos	48
Tabela V: Valores da % de redução do peso seco do rim esquerdo (clipado) em relação ao rim direito (não-clipado) em ratos Sham e 2R1C, sedentários e ativos	49
Tabela VI: Valores do peso dos corações, ventrículos e átrios (g/ 100g do peso corporal) em ratos Sham e 2R1C, sedentários e ativos	55
Tabela VII: Concentração sérica de creatinina ($\mu\text{mol/L}$) e uréia (mmol/L) em ratos Sham e 2R1C, sedentários e ativos	59
Tabela VIII: Valores da pressão arterial (mmHg) em animais acordados (pletismografia) e após anestesia - 20 minutos e duas horas, em ratos Sham e 2R1C, sedentários e ativos.....	61
Tabela IX: Valores basais de Pressão Arterial Média (mmHg) em ratos Sham e 2R1C, sedentários e ativos	66
Tabela X: Valores basais de Frequência Cardíaca (bpm) em ratos Sham e 2R1C, sedentários e ativos	66
Tabela XI: Valores basais de PAM e FC, índice de correlação da regressão linear e sensibilidade da bradicardia reflexa em ratos Sham e 2R1C, sedentários e ativos.....	67
Tabela XII: Valores Basais de Pressão Arterial Média (mmHg) em ratos Sham e 2R1C, sedentários e ativos	72
Tabela XIII: Valores Basais de Frequência Cardíaca (bpm) produzidas por microinjeções de salina, Ang II e PD123319 na CVLM em ratos Sham e 2R1C, sedentários e ativos.....	72
Tabela XIV: Valores basais de Pressão Arterial Média (mmHg) em ratos Sham e 2R1C, sedentários e ativos	74
Tabela XV: Valores basais de Frequência Cardíaca (bpm) em ratos Sham e 2R1C, sedentários e ativos	75

LISTA DE ABREVIATURAS

μg	micrograma
μL	microlitro
μm	micrômetro
2R1C	hipertensão renal do tipo dois-rins, um clip de Goldblatt
Ang II	angiotensina II
ANOVA	análise de variância
AT ₁	receptores angiotensinérgicos do tipo 1
AT _{1A}	receptores angiotensinérgicos do tipo 1, subtipo A
AT _{1B}	receptores angiotensinérgicos do tipo 1, subtipo B
AT ₂	receptores angiotensinérgicos do tipo 2
bpm	batimentos por minuto
CVLM	bulbo ventrolateral caudal
DC	débito cardíaco
dL	decilitro
ECA	enzima conversora de angiotensina
EF	exercício físico
EPM	erro padrão da média
FC	freqüência cardíaca
FCb	freqüência cardíaca basal
FCp	freqüência cardíaca pulsátil
i.p.	intraperitonal
i.v.	intravenosa
mmHg	milímetros de mercúrio
NA	núcleo ambíguo
PA	pressão arterial
PD123319	antagonista de receptor AT ₂ para Ang II
PAM	pressão arterial média
PAP	pressão arterial pulsátil
RVP	resistência vascular periférica
RVLM	bulbo ventrolateral rostral
Sham	grupo submetido à cirurgia fictícia, grupo normotenso, controle
SHR	rato espontaneamente hipertenso
SNA	sistema nervoso autônomo
SNS	sistema nervoso simpático
SRA	sistema renina angiotensina
UI	unidades internacionais
Δ	delta, variação
ΔIP	variação de intervalos de pulsos
ΔPAM	variação da pressão arterial média

SUMÁRIO

RESUMO	07
ABSTRACT	10
LISTA DE FIGURAS	13
LISTA DE TABELAS	15
LISTA DE ABREVIATURAS	16
1. INTRODUÇÃO	19
Revisão da literatura	21
3. MATERIAIS E MÉTODOS	40
3.1. Animais	41
3.2. Cirurgia para o Desenvolvimento da Hipertensão Renovascular	41
3.3. Treinamento Físico.....	42
3.4. Avaliação Indireta da PA Através de Pletismografia de Cauda	43
3.5. Avaliação do Peso Corporal	44
3.6. Avaliação da Ingestão Hídrica	44
3.7. Confecção de Cânulas Vasculares.....	44
3.8. Procedimentos Cirúrgicos	44
3.9. Registro Direto da PAM e FC	45
3.10. Avaliação da Sensibilidade da Bradicardia Baroreflexa	46
3.11. Procedimentos de Microinjeções na Superfície Ventrolateral Caudal	47
3.12. Injeções Intravenosas de Drogas em Ratos Anestesiados	47
3.13. Coleta de Órgãos e Amostras de Tecidos	48
3.14. Coleta de Plasma	49
3.15. Dosagens de Creatinina	49
3.16. Dosagens de Uréia.....	49
3.17. Drogas Utilizadas	50
3.18. Preparo de Soluções.....	50
3.19. Verificação Histológica	51
3.20. Análise Estatística	52
3.21. Protocolos Experimentais.....	52
3.21.1. Avaliação da Sensibilidade da Bradicardia Reflexa	52
3.21.2. Avaliação dos Efeitos Cardiovasculares Produzidos pela Microinjeção de Ang II e PD123319 no Bulbo Ventrolateral Caudal	53

4. RESULTADOS	54
4.1 AVALIAÇÃO DE DIFERENTES PARÂMETROS DA HIPERTENSÃO RENOVASCULAR.....	55
4.1.1. Evolução da PA após Cirurgia para Produção da Hipertensão 2R1C	55
4.2. Avaliação da Ingestão Hídrica	57
4.3. Avaliação do Peso Corporal dos Animais após as Cirurgias (Sham ou 2R1C)	59
4.4. Avaliação Histológica e do Peso Seco dos Rins.....	61
4.5. Avaliação Histológica e do Peso Seco do Coração	69
4.6. Avaliação dos Níveis Séricos de Creatinina e Uréia	75
4.7. AVALIAÇÃO DIRETA DOS PARÂMETROS CARDIOVASCULARES	76
4.7.1. Níveis de Basais de PAM e FC.....	76
4.8. Administração Intravenosa de Ang II e PD123319.....	80
4.9. Efeitos Cardiovasculares Produzidos por Microinjeções de Ang II e PD123319 na CVLM.....	85
4.10. Efeito de Microinjeções de Ang II na CVLM após o Bloqueio do Receptor AT ₂ pelo Antagonista PD123319.....	89
4.11. Avaliação histológica da CVLM	92
5. DISCUSSÃO.....	93
5.1. AVALIAÇÃO DE DIFERENTES PARÂMETROS DA HIPERTENSÃO RENOVASCULAR.....	95
5.1.1. Pletismografia de Cauda:.....	95
5.1.2. Ingestão Hídrica:.....	97
5.1.3. Avaliação do peso Corporal:.....	99
5.1.4. Avaliação do Peso dos Rins:	100
5.1.5. Avaliação do Peso do Coração:.....	102
5.1.6. Avaliação da Creatinina Plasmática:.....	104
5.1.7. Avaliação da Uréia Plasmática:	104
5.2. AVALIAÇÃO DIRETA DOS PARÂMETROS CARDIOVASCULARES	105
5.2.1. Avaliação da PAM e FC.....	105
5.2.2. Administração Intravenosa de Ang II iv.....	107
5.2.3. Bradicardia Reflexa	108
5.2.4. Bulbo Ventrolateral Caudal	109
6. SUMÁRIO E CONCLUSÕES.....	111
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	114
8. ANEXOS	129

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

A hipertensão arterial acomete milhares de pessoas no mundo todo e tem sido explicada como sendo resultado da disfunção do controle da pressão arterial (PA). Está bem estabelecido na literatura que o exercício físico (EF) de baixa à moderada intensidade produz bradicardia de repouso e diminuição da pressão arterial média (PAM) em ratos e humanos hipertensos (ROMAN e cols., 1981; HAGBERG e cols., 1990; TIPTON e cols., 1991; ARAKAWA, 1993; VÉRAS-SILVA e cols., 1997; NEGRÃO e cols., 1999). Estes estudos mostram que estas alterações cardiovasculares estão relacionadas à alteração do tônus autonômico induzido pelo EF, principalmente diminuição da atividade simpática.

Da mesma forma que o sistema renina-angiotensina (SRA) atua modulando respostas cardiovasculares e o equilíbrio hidroeletrólítico, sua participação durante o exercício é relevante, uma vez que durante uma sessão de exercício ou até mesmo após o treinamento físico, são observadas varias alterações do sistema cardiovascular e da homeostasia corporal. Na maioria dos modelos de hipertensão, entre os quais estão incluídas a hipertensão gênica ou a hipertensão renovascular 2R1C, apresentam aumento da atividade do SRA (JUDY e cols., 1976; LUNDIN, e cols., 1984). O bulbo ventrolateral (VLM) influencia a atividade intrínseca do nervo simpático pré-motor espinhal e tem um papel crítico no controle da PA (BLESSING e cols., 1982; MURATANI e cols., 1993 e DAMPNEY, 1994). As áreas rostral (RVLM) e caudal (CVLM) do VLM, possuem ações pressoras e depressoras, respectivamente. Na hipertensão parece haver um desequilíbrio entre a RVLM e a CVLM, ou seja, uma inabilidade dos neurônios da CVLM em contrabalancear o aparente aumento da atividade pressora intrínseca dos neurônios da RVLM em animais hipertensos (MURATANI e cols., 1993).

No presente estudo, investigamos o efeito da atividade física aeróbica de baixa intensidade, natação, sobre parâmetros cardiovasculares em ratos com hipertensão renovascular 2R1C. Foi avaliada a pressão arterial (PA) e frequência cardíaca (FC), ingestão hídrica, o peso corporal dos animais, o peso seco, o percentual de redução e as alterações histológicas nos rins e do coração dos animais experimentais. Avaliamos ainda a bradicardia reflexa, os níveis séricos de uréia e creatinina e o efeito da administração venosa e da microinjeção na CVLM de Ang II, PD123319 e salina nos animais com hipertensão renovascular e normotensos.

REVISÃO DA LITERATURA

O sistema cardiovascular integra o corpo como uma unidade e proporciona aos músculos ativos uma corrente contínua de nutrientes e de oxigênio, de modo que pode ser mantido um alto rendimento energético. Por outro lado, os produtos do metabolismo são removidos rapidamente pela circulação do local de maior gasto de energia.

O sistema cardiovascular é um sistema contínuo que consiste em uma bomba, um circuito de distribuição de alta pressão, canais de permuta e um circuito de coleta e de retorno de baixa pressão. A pressão sanguínea no sistema arterial, ou pressão arterial (PA) é gerada e mantida pela integração entre a força propulsora cardíaca, a capacidade de dilatação elástica da aorta e a resistência ao fluxo do sangue exercida, predominantemente, pelas arteríolas e artérias de calibre inferior a 200 µm de diâmetro.

Assim, a relação direta entre o volume de sangue ejetado por minutos pelo coração, débito cardíaco (DC) e a resistência vascular periférica (RVP) permite que esse sistema dotado de uma bomba intermitente gere pressões supra-atmosféricas permanentemente que oscilam entre um nível máximo e um nível mínimo, sendo, portanto, de natureza pulsátil (ASHTON, 2007).

A regulação da PA é uma das funções fisiológicas mais complexas, que depende de ações integradas dos sistemas cardiovascular, renal, neural e endócrino. A hipertensão arterial é uma desordem do nível médio em que a PA é regulada. Embora tenha enorme importância clínica, uma vez que, cronicamente a pressão elevada acarreta danos ao coração, vasos sanguíneos e rins, pelo menos, nos estágios iniciais da hipertensão, não causa alterações evidentes na função cardiovascular. A maioria das alterações cardiovasculares provocadas pela hipertensão é desencadeada por mecanismos compensatórios provocados diretamente pela pressão alta, como a hipertrofia ventricular e vascular, ou indiretamente, devido ao dano vascular causado como a aterosclerose e nefroesclerose. A investigação da fisiopatologia da hipertensão arterial, portanto, significa entender os mecanismos de controle da PA normal e procurar as alterações sutis que precedem ao aumento da pressão para níveis de hipertensão. Esses conhecimentos são o substrato essencial para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas mais eficientes, visando a um controle mais homogêneo da PA em períodos de 24 horas. A regulação efetiva da PAM é o resultado da atividade de sistemas de retroalimentação que operam em curto e em longo prazo. O principal mecanismo de controle em curto prazo é desempenhado pelos reflexos que são originados nos pressorreceptores arteriais e nos receptores de estiramento da região cardiopulmonar. Assim, com o diagnóstico e tratamento da hipertensão arterial focados no nível basal da pressão sanguínea ocorre grande redução da morbidade mortalidade da população. Por outro lado, a variabilidade da

PA, momento a momento, cujo controle é função do barorreflexo, é também de importante significado clínico (CAMPAGNOLE-SANTOS e HAIBARA, 2001).

O tônus simpático basal e o barorreflexo são modulados primeiramente pelos neurônios do bulbo. O bulbo ventrolateral (VLM) influencia a atividade intrínseca dos neurônios pré-ganglionares simpáticos e tem um papel crítico no controle da PA (BLESSING e cols., 1982; MURATANI e cols., 1993 e DAMPNEY, 1994). As áreas rostral e caudal do VLM, RVLM e CVLM, respectivamente, possuem, papéis importantes no controle central da PAM. A RVLM tem sido caracterizada como uma região pressora e contém neurônios excitatórios que se projetam diretamente à região preganglionar simpática motora na medula espinhal, enquanto a CVLM tem sido caracterizada como uma região depressora (GUERTZENSTEIN e SILVER, 1974; LOEWY e cols., 1981, ROSS e cols., 1984a,b; GUYENET, 1990). Outros núcleos importantes no bulbo são os núcleos ambíguo (NA) e motor do vago, que contêm corpos celulares das fibras parassimpáticas vagais, desempenhando papel fundamental no controle da FC (NOSAKA e cols., 1972; HOPKINS e ARMOUR, 1982).

As informações periféricas são processadas e integradas no núcleo do trato solitário (NTS) com sinais que chegam de outras regiões regulatórias como a medula, ponte, diencefalo e telencefalo (FELDMAN e ELLEMBERGER, 1988). Vários estudos (GORDON, 1987, SMITH e BARRON, 1990 e AGARWAL e CALARESU, 1990 e 1991) mostraram a existência de projeção excitatória do NTS para a região CVLM, a qual promove uma inibição sobre a região simpato-excitatória, RVLM, através de uma via neuronal ascendente. Existe uma conexão entre a CVLM e o NA e motor do vago, permitindo que essa área atue sobre a FC (NOSAKA e cols., 1972; HOPKINS e ARMOUR, 1982, HESPEL e cols, 1988; CRAVO e cols., 1991 e SCHREIHOFER e cols, 2003).

A maioria dos modelos de hipertensão, entre os quais estão incluídas a hipertensão gênica ou a hipertensão renovascular, apresentam aumento da atividade do sistema nervoso simpático (SNS) (JUDY e cols., 1976; LUNDIN, e cols., 1984). Na hipertensão parece haver um desequilíbrio entre a RVLM e a CVLM, ou seja, uma inabilidade dos neurônios da CVLM em contrabalancear o aparente aumento da atividade pressora intrínseca dos neurônios da RVLM em animais hipertensos (CARVALHO e cols., 2003).

McCUBBIN e colaboradores, 1956, foram pioneiros mostrando que os barorreceptores se adaptam a um novo "set point" e exercem sua função em níveis mantidos de PA alta ou baixa. A seguir diversos trabalhos têm mostrado o processo de deslocamento ou adaptação da faixa de funcionamento dos pressorreceptores para níveis mais elevados de pressão nos hipertensos, em várias espécies e em diferentes formas de hipertensão (BRITTO e cols., 1997; NEGRÃO e cols. 2001). Entretanto, não significa que os barorreceptores atuem do mesmo modo que na normotensão. BRISTOW e

colaboradores, 1969, mostraram que o controle barorreflexo da FC estava diminuído em indivíduos hipertensos. Ainda se discute se a diminuição da sensibilidade barorreflexa é causa ou conseqüência da hipertensão. A redução da sensibilidade barorreflexa pode produzir aumento da labilidade da PA diante de diferentes atividades diárias interferindo na função cardiovascular normal e podendo comprometer o funcionamento de diversos órgãos em situações especiais.

Um aumento na sensibilidade do barorreflexo após o treinamento físico foi observado em hipertensos (KRIEGER e cols., 1999). Em ratos espontaneamente hipertensos (SHR), no período posterior ao exercício, foi observado aumento da bradicardia barorreflexa enquanto que as respostas taquicárdicas permaneceram inalteradas (KRIEGER e cols., 1999). Foi observado também, um aumento na integridade vascular em seres humanos após o exercício (KRIEGER e cols., 1999), sugerindo que o “shear stress” aumentado durante o exercício físico também aumenta a liberação dos fatores endoteliais (KRIEGER e cols., 1999). Todos estes mecanismos podem aumentar a sensibilidade das aferências arteriais dos barorreceptores, aumentando, assim a sensibilidade do barorreflexo. MEDEIROS e cols., 2004, em um estudo com ratos Wistar treinados através de natação, por 8 semanas, com uma carga de 5% do peso corporal, mostraram que o aumento nas respostas bradicárdicas nestes animais estavam associadas a um efeito cardíaco vagal aumentado, sem alterações no efeito simpático.

Além das rápidas respostas neurais (segundos), os pressorreceptores controlam também a liberação de hormônios que participam na manutenção dos valores basais da PA. Esses sistemas hormonais prolongam por minutos ou até mesmo horas as respostas cardiovasculares comandadas pelos pressorreceptores. Entre estes sistemas o mais amplamente estudado é o sistema renina angiotensina (SRA). Na regulação da PA pelo SRA, diversos mecanismos controlam a liberação de renina pelo rim, sendo três deles considerados mais importantes.

O primeiro é o mecanismo barorreceptor renal que é desencadeado quando ocorre modificação na pressão da artéria renal. Uma redução na pressão de perfusão renal aumenta a liberação de renina, enquanto um aumento na pressão de perfusão renal diminui a liberação de renina. Acredita-se que o gradiente de pressão transmural é o mais importante determinante da liberação de renina por este mecanismo. O segundo mecanismo é desencadeado pelo SNS renal que estimula a liberação de renina quando ocorre diminuição da PA renal e sistêmica. Os nervos renais parecem controlar a liberação de renina por ação direta sobre as células justaglomerulares, mediada pelos receptores beta-adrenérgicos. O terceiro mecanismo de controle da liberação da renina é o humoral em que várias substâncias estão envolvidas incluindo vasopressina, prostaglandinas, Ang II, dentre outras (DZAU, 1986).

Um aumento da Ang II plasmática pode levar à diminuição da liberação de renina através da estimulação da liberação de aldosterona e vasopressina e do aumento da PA sistêmica, mecanismo chamado de retroalimentação negativa. A liberação de renina é dependente da concentração de sódio no plasma. Uma redução na concentração intracelular de sódio, ao nível da mácula densa, estimula a liberação de renina na circulação sistêmica. Várias técnicas têm sido utilizadas na tentativa de analisar o papel individual e a interação dos mecanismos envolvidos na liberação de renina (DZAU, 1986). Dessa forma, tem sido proposto que o rim contém um SRA intrarenal que regula a hemodinâmica intrarenal, o balanço tubuloglomerular e a homeostasia de sal (DZAU, 1988).

Vários modelos de hipertensão renal têm sido utilizados para elucidar a importância do SRA, na patogenia da hipertensão arterial. A hipertensão renal é produzida experimentalmente através da estenose da artéria renal, perinefrite, compressão renal ou coarctação da aorta nos animais com um ou dois rins. Nesses modelos de hipertensão, o aumento da PA é associado, ao menos inicialmente, com o aumento nos níveis plasmáticos de renina e Ang II (BRODY e cols., 1991).

O modelo de hipertensão renal descrito inicialmente por GOLDBLATT e colaboradores, 1934, pode ser produzido pela constrição de uma artéria renal enquanto o rim contra lateral é mantido intacto (hipertensão renal 2 rins e 1 clipe de Goldblatt – 2R1C). Com a constrição da artéria renal começa a ocorrer uma diminuição do fluxo sanguíneo para este órgão, deste modo, o rim em constrição retém água e sal. O SRA é o responsável pela fase inicial nesse tipo de hipertensão (UNGER e cols., 1998; BRODY e cols., 1991). A renina é fator dominante na manutenção da hipertensão 2R1C denominada renina-dependente. Neste modelo de hipertensão o aumento dos níveis de renina produzida pelo rim isquêmico também determina, no rim direito (não-clipado), retenção de água e sal (NAVAR e cols., 1998).

No rato com hipertensão de Goldblatt 2R1C, a atividade de renina plasmática um mês após a constrição da artéria renal está aumentada, embora a renina plasmática, nesse modelo de hipertensão, tenha uma ampla faixa de distribuição, podendo ser normal em alguns ratos. Na hipertensão de Goldblatt 2R1C, a concentração de renina no rim, cuja artéria está parcialmente ocluída, é 3 a 4 vezes maior que o normal dentro de uma semana, enquanto no rim contralateral (não ocluído) os níveis de renina são quase indetectáveis. A redução da pressão de perfusão e do fluxo sanguíneo renal imposto pela constrição da artéria renal é, certamente, o estímulo para o aumento da produção de renina no rim isquêmico. O desenvolvimento da hipertensão, com conseqüente aumento da pressão de perfusão e do fluxo sanguíneo renal, bem como o aumento de renina circulante, explica a depleção de renina do rim normal (NAVAR e cols., 1998). A remoção do rim normal na hipertensão de Goldblatt 2R1C leva a uma redução dos níveis de renina do rim

parcialmente ocluído. Embora a razão para esse fato não seja totalmente compreendida, talvez a remoção do rim normal reduza a excreção de sódio e a eliminação de água na urina, levando a um aumento no volume do fluido extracelular, o que poderia influenciar os níveis de renina do rim isquêmico (NAVAR e cols, 1998).

A reversão da hipertensão de Goldblatt 2R1C pode ser obtida pela remoção da constrição arterial ou pela retirada do rim com clipe. Quando o clipe ou o rim é removido em ratos com hipertensão crônica (mais de 2 meses de duração), geralmente a PA não se reduz, pelo menos não até os níveis de normalidade. Entretanto, a remoção do rim contralateral no animal hipertenso crônico 2R1C normaliza a PA, indicando que o rim contralateral deva ser responsável pela manutenção da hipertensão (FAZAN e cols., 2001).

A idéia de que a hipertensão de Goldblatt 2R1C em ratos evolui de uma maneira tríplice foi sugerida inicialmente por BROWN e colaboradores em 1979. A fase I é caracterizada por aumento na PA, na atividade da renina plasmática e nos níveis circulantes de Ang II imediatamente após a constrição da artéria renal. A retirada do clipe renal ou a administração de um inibidor da ECA durante esta fase resulta em queda imediata da concentração de Ang II plasmática e da PA. Em 2 a 4 semanas, a atividade da renina plasmática e os níveis de Ang II tendem a cair para níveis semelhantes ao normal, ao passo que a PA permanece elevada e continua a aumentar (MORTON e cols., 1983). Este cenário é característico da fase II. Apesar dos níveis plasmáticos normais de renina e Ang II, a hipertensão nesta fase ainda é angiotensina dependente, já que a PA pode ser completamente normalizada pelos inibidores da ECA (WALLACE e cols., 1984). Se a fase II não for tratada por vários meses existe uma progressão gradual para a fase III, na qual a inibição do eixo renina angiotensina não é mais capaz de reverter completamente a PA.

A dissociação aparente entre a Ang II circulante e a PA na fase II em face da contínua dependência de angiotensina representa um interessante paradoxo, uma vez que os inibidores da ECA são efetivos no tratamento da hipertensão. Diversas teorias têm tentado responder esta questão. Uma idéia é que os efeitos antihipertensivos dos inibidores da ECA devem-se a ações farmacológicas dessas drogas que não estão relacionados com a inibição da formação de Ang II. Durante a inibição da ECA os níveis tissulares de bradicinina aumentam, causando vasodilatação e subsequente queda da PA. Esta idéia tem sido testada repetidas vezes porém com resultados inconsistentes (BAO e cols., 1992). Tem sido também sugerido que os inibidores da ECA reduzem a PA por aumentar a produção de prostanóides (prostaglandinas) vasodilatadores (SCHRÖR, 1992), através do aumento da ação do NO (GOLDSCHMIDT e cols., 1991) e por bloquear o influxo de cálcio na células da musculatura lisa vascular (ZHU e cols., 1993).

Outra possibilidade é que a fase II da hipertensão 2R1C seja a manifestação do aumento das ações pressoras da Ang II circulantes. Está bem documentado que a Ang II

plasmática pode aumentar a PA através de 2 mecanismos distintos. Doses maiores desses peptídeos (>29 pmol/ kg/ min) aumentam a PA agudamente em segundos a minutos. Esse é o efeito pressor direto, ou rápido, da Ang II. Esse efeito é causado principalmente pelas ações vasoconstritoras desse peptídeo. O outro mecanismo pelo qual a Ang II aumenta a PA é o efeito pressor lento, que foi caracterizado por DICKINSON e LAWRENCE em 1963, esse fenômeno pelo qual a infusão de baixas doses de Ang II que não causam efeitos pressores agudos, quando mantida ao longo de horas ou dias, produz hipertensão sustentada. O efeito pressor lento foi extensivamente mostrado por BROWN e colaboradores, 1979, no qual ficou evidente que níveis de Ang II plasmática quase indetectáveis podem induzir a hipertensão crônica em ratos normais. É possível que na hipertensão 2R1C, um ou ambos desses efeitos pressores podem estar aumentados e portanto mantendo a PA elevada. Apesar da ocorrência de alterações na estrutura vascular dos ratos 2R1C causando aumento na reatividade dos vasos de resistência *in vitro*, estudos anteriores (BROWN e cols., 1979) têm demonstrado que o efeito pressor rápido da Ang II não está aumentado na hipertensão 2R1C. Todavia, a contribuição do efeito pressor lento nesse modelo hipertensivo ainda não foi adequadamente estudado. Outros investigadores (WALLACE e cols., 1984; SKULAN e cols., 1974; TEN BERG e cols., 1980) sugerem um aumento na sensibilidade do mecanismo pressor lento da Ang II em hipertensão 2R1C. Adicionalmente, MELARAGNO e cols., 1995 mostraram que a estenose da artéria renal promoveu aumento da responsividade do efeito pressor lento da Ang II em ratos. Estes resultados sugerem que esta responsividade aumentada explique a aparente dissociação entre a concentração plasmática de Ang II e PA observadas na fase II da hipertensão 2R1C em ratos, quando níveis plasmáticos normais desse peptídeo são capazes de manter a hipertensão. Estudos adicionais são necessários para confirmar estes dados.

Em sua definição clássica, o SRA atua sobre a PA por meio da angiotensina II (Ang II), gerada na circulação em uma cascata enzimática iniciada pela renina, que é secretada pelas células justaglomerulares do rim constituído por células mioepiteliais diferenciadas localizadas na mácula densa, região distal da arteríola aferente, próxima à porção inicial do túbulo distal (DZAU, 1986). A renina cliva o angiotensinogênio produzido no fígado, gerando o decapeptídeo inativo Ang I, que dá origem à Ang II pela ação da enzima conversora de angiotensina (ECA) (IRIGOYEN e cols, 2001, NICKENIG e HARRISON, 2002a,b). Atualmente, considera-se que os efeitos biológicos do SRA são decorrentes não só da principal angiotensina desse sistema, a Ang II, como também de outros fragmentos ativos de angiotensina I e Ang II, que possuem propriedades biológicas mais seletivas (KHOSLA e cols, 1974; DZAU, 1988; SANTOS e cols, 1988; FERRARIO e cols, 1990a,b; SANTOS e CAMPAGNOLE-SANTOS, 1994).

Em uma visão mais atual, considera-se que as ações do SRA dependem em grande parte dos produtos ativos carboxi-terminal da Ang II, angiotensina III (Ang III), angiotensina IV (Ang IV) e amino-terminal, angiotensina-(1-7) [Ang-(1-7)] (SANTOS e cols, 1988; FERRARIO e cols, 1990a,b; SANTOS e CAMPAGNOLE-SANTOS, 1994). As angiotensinas destacam-se por terem um importante papel no controle da PAM e na homeostasia dos fluidos e eletrólitos. A Ang II, como já dito, é considerada a principal angiotensina desse sistema por interagir com múltiplos tecidos, incluindo o córtex adrenal, o miocárdio, o músculo liso vascular, o rim e o cérebro, e suas ações mais importantes estão relacionadas com a modulação da frequência e contratilidade cardíaca, tônus vascular, liberação de aldosterona, filtração e reabsorção de sódio glomerular e secreção de vasopressina, dentre outras. Essas funções podem estar alteradas nas doenças vasculares como na hipertensão e aterosclerose. Além disso, a Ang II promove o crescimento e a hipertrofia do músculo cardíaco e músculo liso vascular.

THOMAS e QIAM, 2003, observaram que a Ang II, que tem seus níveis aumentados na hipertensão, é capaz de estimular o crescimento de células da musculatura lisa vascular, cardiomiócitos e células renais e contribuir para a hipertrofia patológica observada nos vasos sanguíneos, coração e rins em associação com doenças cardiovasculares.

Já está estabelecido na literatura que a hipertensão por si só e também os níveis elevados de Ang II circulante, característico da hipertensão 2R1C, são capazes de provocar diversas alterações patológicas, dentre as quais destacamos a degeneração, a inflamação, a esclerose glomerular e a fibrose.

A degeneração é um processo patológico regressivo da célula, no qual o citoplasma apresenta-se mais acentuadamente lesado do que o núcleo. Em consequência da lesão, há redução ou perda da função celular. As degenerações também são designadas distrofias. As lesões degenerativas às vezes são produzidas por fatores pouco agressivos e, por isso, denominadas subletais, sendo de gravidade reduzida e, conseqüentemente, reversíveis (AGUAS e NICKERSON, 1991).

A lesão mais complexa que envolve todos os componentes do tecido é a inflamação, que se caracteriza por modificações locais da microcirculação e pela saída de células do leito vascular, acompanhadas por lesões celulares e do interstício provocadas principalmente por ação das células fagocitárias e das lesões vasculares que acompanham o processo. É uma reação secundária que acompanha a maioria das lesões iniciais produzidas por diferentes agentes lesivos (HILGERS e cols., 2001).

A esclerose caracteriza-se por um aumento de tecido fibroso em vários órgãos e tecidos, adquirindo especial relevância as alterações vasculares. Os rins são acometidos em cerca de 40% dos casos. Na esclerose glomerular, os túbulos renais encontram-se hipotróficos ou em necrose. No interstício, existem edema, infiltrado inflamatório

mononuclear focal e, posteriormente, fibrose. A etiopatogênese das lesões renais é pouco conhecida, sendo sugerido como causas a agressão ao endotélio, aumento da permeabilidade vascular e coagulação intravascular, não estando bem definido qual seria o primeiro evento a ocorrer. A participação de imunocomplexos é admitida pela presença de imunoglobulinas e complemento nas paredes vasculares (HILGERS e cols., 2001).

As fibroses são condições caracterizadas por aumento do estroma conjuntivo de um órgão decorrente de cicatrização normal ou exagerada ou de um processo reacional em que a produção de matriz extracelular não está relacionada com processo reparativo. Em consequência das modificações na arquitetura do órgão e das alterações na função das células parenquimatosas pela fibrose, podem surgir transtornos funcionais importantes nos locais acometidos. Nas hipertrofias decorrentes da hipertensão arterial, a fibrose reacional é intensa e desproporcional à hipertrofia. O aumento da quantidade de fibras colágenas no estroma é maior do que a hipertrofia celular, de modo que a relação entre a massa de estroma e massa dos cardiomiócitos aumenta (HILGERS e cols., 2001).

A Ang II exerce funções em órgãos-alvo distantes do local de sua produção. Esse conceito clássico do SRA como um sistema exclusivamente circulante foi alterado. Utilizando-se técnicas de biologia molecular, foi detectado e quantificado RNAm para renina e angiotensinogênio em vários tecidos além do rim e do fígado, que são os locais clássicos da expressão gênica dessas substâncias (IRIGOYEN e cols., 2001). O SRA sistêmico pode afetar a produção de Ang II local por afetar a liberação de renina, ECA e angiotensinogênio do plasma circulante para os tecidos (JOHNSTON, 1990), pois estes componentes podem, sofrer endocitose e serem usados para síntese local da Ang II. Em muitos tecidos é difícil determinar a relativa contribuição do SRA local e sistêmico para produção de Ang II. Entretanto, o SRA cerebral tem sido considerado como tendo sua regulação independente do SRA sistêmico (PHILLIPS, 1987, UNGER e cols., 1988).

A existência de SRA tecidual tem sido evidenciada pela determinação de atividade de renina e de seus substratos, e pela presença da ECA, angiotensinas e receptores de angiotensinas em múltiplos tecidos, principalmente naqueles que estão envolvidos com a homeostasia cardiorrenal e da PA, ou seja, rim, adrenal, cérebro, coração e vasos sanguíneos. Além disso, como já mencionado, as técnicas de biologia molecular têm claramente demonstrado que tanto a renina quanto o angiotensinogênio estão presentes em múltiplos órgãos (CAMPBELL, 1987; DZAU, 1988; ALLEN e cols., 1998).

O SRA periférico e central parecem estar envolvidos no desenvolvimento e manutenção de várias formas de hipertensão tais como: hipertensão essencial, hipertensão renal, hipertensão neurogênica e hipertensão por mineralocorticóides e sal (FERRARIO e cols., 1990a, b; BRODY e cols., 1991).

Na hipertensão renovascular o SRA tecidual está ativado e os produtos desta ativação agem de forma parácrina, sendo muitas vezes não detectáveis no plasma (KAGIYAMA e cols., 2001; SADJADI e cols., 2005). KAGIYAMA e colaboradores, 2001 mostraram que na hipertensão 2R1C até 6 a 10 meses após a implantação do clipe, a PA mantinha-se elevada e que apesar dos níveis de Ang II no plasma estarem reduzidos a hipertensão era sustentada pelo SRA central. Esses mesmos autores relataram, em ratos transgênicos, que havia uma inibição permanente da síntese cérebro-específica de angiotensinogênio (AGT) e que ocorria uma redução da hipertensão induzida pela administração de baixas doses de Ang II. Além disso, relataram também um significativo aumento nos níveis de Ang II no hipotálamo, no núcleo paraventricular (PVN) e na área postrema em ratos com hipertensão renovascular. KOPP e colaboradores, 1989, mostraram que há evidências para sugerir que os mecanismos neurogênicos centrais e periféricos interagem no desenvolvimento e na manutenção da hipertensão 2R1C. A hipertensão 2R1C pode ser mediada por mecanismos neurogênicos centrais e angiotensina-dependentes que são influenciados pelo nervo renal aferente (MURATANI e cols., 1993).

Os neurônios da VLM são modulados por peptídeos do SRA. Estudos prévios (BLESSING e cols., 1982; DAMPNEY, 1994; AVERILL e cols., 2000; BECKER e cols., 2005; ALZAMORA e cols., 2002 e 2006) mostraram que há uma interação importante entre os neurônios de VLM e a Ang II. A Ang II microinjetada na RVLM e na CVLM age como um agente excitatório, tanto em animais anestesiados (AVERILL e cols., 2000; MURATANI e cols., 1993; SESOKO e cols., 1995; ALZAMORA e cols., 2002 e 2006) quanto em animais acordados (FONTES e cols. 1997, BECKER e cols., 2005).

Sesoko e colaboradores, 1995, mostraram que a Ang II endógena na CVLM modula o barorreflexo em ratos anestesiados normotensos Sprague-Dawley (SD). Neste estudo foi observado a atividade simpática do nervo renal (RSNA) em resposta às alterações transitórias da PA induzidas por infusões (*i.v.*) de fenilefrina (aumentos) e nitroglicerina (diminuições), antes e depois de microinjeções bilaterais de Sar¹,Thr⁸-Ang II, (antagonista não seletivo de receptor de angiotensina) na CVLM. O antagonista de angiotensina aumentou a PAM e RSNA e também aumentou a sensibilidade do barorreflexo durante infusões de nitroglicerina. Ao contrário, a sensibilidade do barorreflexo examinada após infusão com fenilefrina não foi alterada após pré-tratamento com o antagonista de angiotensina. Dessa forma, estes resultados sugerem que a Ang II endógena da região CVLM exerce um papel modulatório no controle barorreflexo da RSNA.

ALZAMORA e colaboradores, 2002, mostraram que o efeito hipotensor produzido por microinjeções de Ang II na CVLM depende principalmente de mudanças no tônus vascular adrenérgico, enquanto o efeito hipotensor de Ang-(1-7) pode envolver um diferente

mecanismo através de uma via nitroxidérgica. Recentemente mostramos (ALZAMORA e cols, 2006) que a microinjeção desses peptídeos na CVLM produziu hipotensão, que também não foi acompanhada por alterações significativas de FC e do DC, e induziu alterações distintas sobre a modulação do controle reflexo da FC. Enquanto a Ang-(1-7) na CVLM atenuou a bradicardia e facilitou a taquicardia barorreflexa a microinjeção de Ang II na CVLM produziu efeitos contrários, ou seja, atenuou a taquicardia e melhorou a bradicardia reflexas.

Vários trabalhos (FERRARIO e cols, 1970; GUO e ABOUD, 1984 e MATSUMURA e cols, 1989) mostraram que a Ang II diminui a sensibilidade do controle pressorreceptor. Adicionalmente, estudos com ratos SHR jovens, mostraram que agentes anti-hipertensivos podem atenuar o desenvolvimanto da hipertensão arterial por promover uma restauração da sensibilidade do reflexo pressorreceptor (KUMAGAI e cols., 1990 e 1996).

A Ang II vem sendo estudada como um dos fatores determinantes não só no desenvolvimento como na manutenção de diferentes tipos de hipertensão. Além de sua ação direta sobre o músculo liso vascular (funcional e estrutural) e sobre a regulação do volume sanguíneo por meio da aldosterona, suas ações central e periférica no controle da atividade simpática contribuem decisivamente para o processo hipertensivo (IRIGOYEN e cols., 2001). Uma série de estudos sugere a participação da Ang II cerebral no aumento da atividade eferente vasoconstrictora observada em animais hipertensos (FALCON e cols, 1978; PHILLIPS e KIMURA, 1986; UNGER e cols., 1988; GYURKO e cols., 1993; WIELBO e cols., 1995). A Ang II age através de seus receptores do tipo I e tipo II, sendo respectivamente denominados receptores AT₁ e AT₂. Os receptores AT₁ são sensíveis ao derivado imidazólico losartan (DUP 753) e os receptores AT₂, insensíveis ao losartan, porém sensíveis a CGP42112A, PD123177 e PD123319 (WITEBREAD e cols, 1989, SPETH e KIM, 1990, BUMPUS e cols, 1991). Particularmente na RVLM, onde os neurônios apresentam excitabilidade aumentada nos SHR (CHAN e cols, 1991), ocorre um aumento da expressão de receptores AT₁ (GUTKIND e cols., 1988).

Embora a Ang II ligue-se aos subtipos de receptor tipo AT₁ e tipo AT₂, é o receptor AT₁ que media a maioria dos seus efeitos cardiovasculares que podem levar à hipertensão, incluindo o estresse oxidativo, a liberação de norepinefrina, a vasoconstrição, a secreção de aldosterona, a reabsorção de sódio renal, a estimulação simpática, a liberação de vasopressina, a hipertrofia celular vascular e cardíaca e a proliferação celular (NICKENIG e HARRISON, 2002).

O receptor AT₁ é expresso em células musculares lisas, miocárdio, pulmões, cérebro, rins, fígado e glândulas adrenais. Embora o receptor AT₂ seja amplamente expresso no período embrionário, sua expressão em adultos é baixa e ocorre em certos tecidos como no cérebro, medula das adrenais, rins, útero e ovários. Evidências indicam

que o receptor AT_2 participa de múltiplas funções fisiológicas, incluindo natriurese (LO e cols., 1995), efeitos sobre a PA (TONY e PORTER, 1993 e HU e cols., 2002), autorregulação do fluxo sanguíneo cerebral (STROMBERG e cols., 1993) e apoptose. Estudos mostraram elevação da PAM em camundongos deficientes de receptores AT_2 , sugerindo um papel direto ou indireto dos receptores AT_2 no controle cardiovascular e/ ou na homeostasia dos fluidos corporais (JOHREN e cols., 2004).

Existem duas espécies de receptores AT_1 , os AT_{1A} e AT_{1B} . Os receptores de AT_{1A} têm um papel essencial no controle da PA, sendo, portanto, essenciais para o desenvolvimento da hipertensão 2R1C (CERVENKA e cols., 2002). Existem evidências de que ocorre um aumento na atividade da óxido nítrico sintase (NOS) em modelos de hipertensão dependentes de Ang II. O óxido nítrico (NO) promove um efeito vasodilatador importante que neutraliza as respostas pressoras da Ang II, sendo que a hipótese mais aceita é a de que exista um caráter compensatório no aumento na atividade da NOS que neutraliza parcialmente a influência vasoconstritora da Ang II na hipertensão renovascular de Goldblatt (dois rins e 1 clip, 2R1C). O aumento na atividade da NOS também poderia ser atribuído aos altos níveis de PA que causa um “shear stress” endotelial aumentado, que é um estímulo para a liberação de NO. Outra possibilidade seria um estímulo ao aumento na produção de NO causado pela própria Ang II. Contudo, as vias que promovem a liberação de NO pela Ang II agindo em seus receptores angiotensinérgicos específicos, AT_{1A} e AT_2 , ainda são foco de diversos estudos.

Estudos anteriores (BLUNE e cols., 2001; CERVENKA e cols., 2002) sugerem que, no modelo de hipertensão renal 2R1C, o aumento na produção de NO é dependente da ativação do receptor AT_2 . Esses trabalhos mostraram que a administração de agonista do receptor AT_2 potencializou as ações antihipertensivas provocadas pelo bloqueio do receptor AT_1 em SHR e diminuiu a PA em ratos normotensos. Além disso, o bloqueio do receptor AT_2 alterou o curso da hipertensão renal e os ratos “knockout” para o receptor AT_2 apresentaram a PA basal ligeiramente mais elevada e uma maior sensibilidade à Ang II, na medida em que apresentavam respostas pressoras mais elevadas. Por outro lado, há também estudos que demonstraram que os receptores AT_2 não têm um papel importante como mediadores de ações vasodiladoras. Foi relatado que o bloqueio crônico dos receptores AT_2 não foi capaz de mudar o curso da hipertensão em ratos infundidos com Ang II (CERVENKA e cols., 2002). Porém, em animais “knockout” para o receptor AT_{1A} a infusão de PD123319, pelo contrário, causou um significativo aumento na PA dos animais, mostrando que em situações específicas o receptor AT_2 pode participar da regulação aguda da PA (CERVENKA e cols., 2002).

Como já mencionado anteriormente, a manutenção da PA é essencial para assegurar uma boa perfusão e o bom funcionamento dos órgãos e tecidos. Entre os vários mecanismos de controle que atuam no sistema cardiovascular a fim de manter constante a PA há os que atuam em longo prazo e os que atuam em curto prazo, envolvendo vários sistemas fisiológicos: cardiovascular, renal, neural e endócrino (SHEPHERD, 1982; DAMPNEY, 1994). Sem correção, a hipertensão pode resultar em insuficiência cardíaca, infarto do miocárdio ou apoplexia (acidente vascular cerebral).

As doenças cardiovasculares como, a hipertensão arterial, têm sido a causa de milhares de óbitos de pessoas no mundo todo e por esta razão vários estudos têm sido desenvolvidos para tentar compreender melhor esta patologia.

Uma em cada três a quatro pessoas terá uma PA anormalmente alta em algum momento no transcorrer de suas vidas, essa doença é prevalente entre os americanos negros. Estima-se que um bilhão de pessoas sejam hipertensas em todo mundo. Nos EUA, esta doença acomete cerca de 50 milhões de indivíduos, isto é, 30% da população (The JNCV Report, 1993). Estudos no Brasil mostram taxas de 16,1% a 35,1% de prevalência dependendo dos grupos étnicos e sociais estudados e dos parâmetros propostos para os limites definidos de hipertensão (FREITAS e cols., 2001). A HAS (hipertensão arterial sistêmica) possui alto custo social sendo responsável por 40% dos casos de aposentadoria precoce e de absenteísmo do trabalho em nosso meio (SABRY e cols., 2001).

Atualmente, os valores de referência para a classificação da HAS foram alterados, indivíduos que apresentam PAS de 120 a 139 mmHg e/ou PAD de 80 a 89 mmHg são considerados como pré-hipertensos e já passam a requerer modificações de estilo de vida para prevenir o surgimento das doenças cardiovasculares (DCV) (The JNC VII Report, 2003). Porém, este tipo de classificação, por apenas níveis tensionais, é insuficiente para se definir a hipertensão e para se obter um diagnóstico confiável, sendo necessária uma análise global do paciente.

Sem dúvida, a HAS é um importante fator de risco independente para DCV. As DCV (s) são descritas como uma entidade clínica multifatorial e consideradas uma síndrome caracterizada por níveis tensionais elevados associados a alterações metabólicas e hormonais, já que a regulação da pressão sanguínea é um processo altamente complexo, influenciado por diversos sistemas fisiológicos (NEUTEL e SMITH, 1999).

Uma redução de apenas 2 mmHg na PAS pode reduzir as mortes por apoplexia em 6% e a enfermidade cardíaca em 4%. A PAM deve ser checada a intervalos periódicos, pois a hipertensão pode passar despercebida por vários anos. Entretanto, pode ser tratada efetivamente com modificações no estilo de vida e por medicações que reduzem o volume líquido extracelular ou a resistência periférica ao fluxo sanguíneo. Certas modificações benéficas no estilo de vida, tais como uma dieta prudente, o controle de peso e o exercício

moderado realizado regularmente, são mais desejáveis que a abordagem farmacológica para o tratamento da hipertensão leve. Isso por causa dos possíveis efeitos colaterais deletérios da terapia medicamentosa sobre outros fatores de risco para coronariopatia (KAPLAN, 1990).

As pressões sistólica e diastólica podem ser reduzidas em aproximadamente 6 a 10 mmHg com o exercício aeróbico regular para muitos homens e mulheres até então sedentários, independente da idade. Esses resultados foram observados com indivíduo normotensos e hipertensos, tanto em repouso quanto durante a realização de um exercício (BAGLIVO e cols., 1990; URATA e cols., 1987). A prática de exercícios físicos regulares contribui, com o passar do tempo, no controle da tendência de aumento da PA nos indivíduos com risco de hipertensão (PAFFENBARGER e cols., 1991). Esse papel de prevenção é importante, pois até mesmo quando a PA elevada é normalizada, o risco em relação a essa doença continua sendo mais alto do que poderia ser se a pessoa nunca se houvesse tornado hipertensa.

Os efeitos do treinamento físico sobre a PA são mais efetivos na maioria dos pacientes com hipertensão moderada ou "límitrofe" (HAGBERG e cols., 1989). CLAUSEN e colaboradores, 1969, mostraram em um estudo realizado com homens de meia-idade com coronariopatia, que a pressão sistólica média em repouso caiu em 6 mmHg após 4 a 6 semanas de treinamento. Com níveis submáximos semelhantes de exercício, a PAS caiu 18 mmHg, enquanto a PAD foi reduzida também em 13 mmHg. Conseqüentemente, o exercício reduziu a PA em aproximadamente 14% após o treinamento. Achados semelhantes foram observados para um grupo de hipertensos aparentemente saudáveis, porém límitrofes, de 37 homens de meia-idade após seis meses de exercício (CHOQUETT e cols., 1973). Para um grupo de homens e mulheres de 60 a 70 anos de idade vítimas de hipertensão, um programa de nove meses de exercício aeróbicos de baixa intensidade conseguiu reduzir a PAS em 20 mmHg e a PAD em 12 mmHg (HAGBERG e cols., 1989).

Até mesmo quando o exercício se revela ineficaz no sentido de normalizar a PA, o treinamento aeróbico confere benefícios de saúde independentes do efeito sobre a PA. BLAIR e colaboradores, 1989, em estudos com indivíduos com hipertensão e aerobicamente aptos, apresentaram taxa de mortalidade 60% mais baixa que indivíduos normotensos inaptos aerobicamente. A maior mortalidade associada com a PA elevada era superada completamente pelo nível de aptidão mais alto do indivíduo. Para as elevações mais intensas e resistentes na PA, poderá ser necessária uma combinação de dieta, perda de peso, maior quantidade de exercício e terapias farmacológicas.

O exercício físico (EF) que produz um aumento de tensão, especialmente durante a fase concêntrica (de encurtamento) da contração muscular, comprime mecanicamente o sistema arterial periférico. Isso acarreta uma redução persistente na perfusão muscular

(aumento drástico na RVP) que é diretamente proporcional ao percentual da capacidade de força máxima exercida. Consequentemente, a atividade do SNS, o DC e a PAM aumentam drasticamente na tentativa de restaurar o fluxo sanguíneo muscular (GAFFNEY e cols., 1990). A magnitude da resposta está relacionada diretamente à intensidade do esforço e ao tamanho da massa muscular envolvida (FRIEDMAN e cols., 1992).

É conhecido que os efeitos benéficos do EF dependem de mecanismos hemodinâmicos, autonômicos ou reflexos que regulam o sistema cardiovascular. Também já está estabelecido que o EF de baixa intensidade produz bradicardia de repouso e diminuição da PAM em ratos e humanos hipertensos (ROMAN e cols., 1981; HAGBERG e cols., 1990; TIPTON e cols., 1991; ARAKAWA, 1993; VÉRAS-SILVA e cols., 1997; NEGRÃO e cols., 1999).

Os efeitos fisiológicos do EF podem ser classificados em agudos imediatos, agudos tardios e crônicos. Os efeitos agudos imediatos são os que ocorrem nos períodos peri e pós-imediato do EF, com elevação da FC, da PA, do volume sistólico, da ventilação pulmonar, sudorese e diminuição da RVP. Já os efeitos tardios acontecem no longo das primeiras 24 ou 48 horas após o EF. Podem ser identificados por uma discreta redução dos níveis tensionais, especialmente nos hipertensos, e aumento da sensibilidade insulínica na musculatura esquelética, além de expansão do volume plasmático e melhora da função endotelial. Por fim, os efeitos crônicos, ou seja, as adaptações resultam da exposição freqüente e regular ao EF. Têm-se como efeito crônico do EF a bradicardia relativa de repouso, o aumento do volume sanguíneo, a hipertrofia muscular, a hipertrofia excêntrica ventricular esquerda fisiológica e o aumento do consumo máximo de O₂ (O'SULLIVAN e BELL, 2000).

Estudos deixam poucas dúvidas com relação ao efeito benéfico do exercício físico crônico na hipertensão arterial. Porém, estes benefícios dependem do tipo de EF, da intensidade e da duração do mesmo, em animais e em humanos. Em geral, exercícios isométricos produzem maiores aumentos de FC e de PA quando comparados aos exercícios dinâmicos (LAUGHIN, 1999).

Com relação à duração do EF, estudos realizados por OVERTON e colaboradores, 1988, em ratos SHR revelaram que treinamentos de 20 a 40 min foram capazes de provocar queda pressórica. Já em humanos a queda pressórica foi melhor observada em treinos de 25 minutos de duração do que em treinamentos com duração igual ou superior a 45 minutos. A relevância clínica destes estudos se baseia no fato de que os níveis pressóricos permaneciam abaixo dos níveis pressóricos de um dia controle por 24 horas (efeito agudo do exercício). Outra relevância clínica é a aplicabilidade deste método também em humanos, uma vez que os resultados não são observados somente experimentalmente.

Com relação à intensidade, exercícios de baixa intensidade (50% do consumo de O₂ de pico) provocaram diminuição significativa na PAS, PAD e média em SHR, entretanto os Ativos com alta intensidade (85% de consumo de O₂ de pico) não tiveram o quadro de hipertensão modificado. Geralmente, exercícios de baixa a moderada intensidade e com longa duração produzem maiores efeitos sobre a PAM de repouso (KRIEGER e cols., 1999).

Um outro ponto de dúvida entre os pesquisadores era se durante o exercício ocorreria bradicardia reflexa, uma vez que era observado, na verdade, uma intensa taquicardia o que poderia levantar a hipótese de desativação dos pressoreceptores arteriais durante o EF. Porém, estudos com infusão endovenosa de fenilefrina provocaram diminuição na FC, mostrando que mesmo durante o EF há funcionamento dos pressoreceptores arteriais e que o treinamento melhorava a sensibilidade barorreflexa em SHR (NEGRÃO e cols., 2001).

No entanto, existem controvérsias a respeito do EF sobre os componentes do barorreflexo. SILVA e colaboradores, 1997, mostraram, em ratos submetidos à atividade física que o EF produziu aumento da sensibilidade para os dois componentes do barorreflexo, para a bradicardia e taquicardia, retornando-os para valores próximos dos normais. Por outro lado, BRUM e colaboradores, 2000, observaram apenas um aumento da taquicardia barorreflexa sem alterar a bradicardia após o EF em ratos normotensos. NEGRÃO e colaboradores, 1993 sugerem que essas alterações diferenciadas na sensibilidade barorreflexa possam ser explicadas por alterações no controle intrínseco da frequência cardíaca, como modificações no padrão de descarga do nodo sino-atrial.

Os mecanismos que podem estar envolvidos no ganho na sensibilidade barorreceptora nos animais hipertensos após o EF são um aumento da complacência vascular aórtica (KIRCHHEIM, 1976) ou ainda mudanças endoteliais produzidas pelo “*shear stress*” durante o exercício, que poderiam aumentar a liberação de fatores endoteliais (CAMERON e DART, 1994). Além disso, NEGRÃO e cols, 2001, demonstraram que em ratos SHR, o EF melhora o controle barorreflexo, o que é decorrente de uma maior sensibilidade do nervo depressor aórtico.

A redução da PAM em animais e humanos hipertensos após o EF, pode estar relacionada a uma queda da RVP e/ ou a decréscimo do DC decorrente da bradicardia de repouso após o EF. Observações prévias (JENNINGS e cols., 1986; NEGRÃO e cols., 1992; KRIEGER e cols., 1999) demonstram que animais hipertensos submetidos a condicionamento físico com atividade física leve apresentam uma redução da PA acompanhada de queda do inotropismo com repercussão sobre o DC. Percebeu-se ainda que o treinamento de alta intensidade não alterava o DC.

Durante o exercício físico aeróbico, o aporte de sangue para a musculatura aumenta para garantir o fornecimento de oxigênio e nutrientes para a contração muscular (SALTIN e cols., 1998). Para suprir essa necessidade o sistema cardiovascular sofre alterações importantes e imediatas. Esses ajustes cardiovasculares são mediados pela ação imediata do comando central, que diminui a atividade parassimpática para o coração (ROWELL e cols., 1990) e pela contração muscular que ativa os mecanorreceptores e quimiorreceptores musculares e articulares, aumentando a atividade nervosa simpática para o coração (O'SULLIVAN e cols., 2000). Em conjunto, esses mecanismos levam ao aumento da PAS, da FC e do volume sistólico aumentando conseqüentemente o DC (ROWELL e cols., 1990). Simultaneamente a produção de metabólitos e fatores dilatadores na musculatura provocam dilatação dos vasos esqueléticos (SALTIN e cols., 1998 e O'SULLIVAN e cols., 2000) reduzindo sobremaneira, a resistência vascular na musculatura para garantir o aporte de sangue adequado para o músculo ativo. No entanto, essa intensa vasodilatação é compensada pela intensificação nervosa simpática em regiões inativas e mesmo pelo aumento dessa atividade na região ativa, restringindo a vasodilatação excessiva e evitando queda demasiada da PA diastólica (SALTIN e cols., 1998 e ROWELL e cols., 1990). Porém, as alterações neurais, metabólicas e cardiovasculares mencionadas dependem da intensidade do exercício aeróbio (SALTIN e cols., 1998 e ROWELL e cols., 1990).

Durante uma sessão de exercício há um aumento da concentração plasmática de Ang II, a qual contribui para o efeito pressor do exercício através de uma facilitação da liberação de norepinefrina pelos neurônios pós-ganglionares simpáticos (WARREN e cols., 2001). Em adição, BRAITH e colaboradores, 1999, observaram que após treinamento físico as concentrações plasmáticas de Ang II, aldosterona, vasopressina e hormônio natriurético atrial (ANP) diminuem durante o repouso em pacientes com insuficiência cardíaca. No entanto no pico do exercício não foi observada diminuição dos níveis plasmáticos desses neuro-hormônios. Estes dados indicam que o EF altera apenas a hiperatividade neuroendócrina associada à insuficiência cardíaca, sem alterar as respostas hormonais durante a fase intensa do exercício. Também em pacientes hipertensos o EF produz diminuição da atividade nervosa muscular (WINDER e cols, 1982).

McARDLE e colaboradores, 1998, demonstraram que as adaptações cardiovasculares produzidas pelo EF podem estar relacionadas à alteração da atividade autonômica periférica, uma vez que ocorre uma diminuição do tônus simpático e um aumento do tônus vagal após o treinamento. Além disso, esta redução do tônus simpático, na verdade, normaliza este parâmetro em ratos hipertensos, permanecendo assim com níveis de atividade simpática semelhantes ao dos animais normotensos. Sendo assim, o EF no rato hipertenso se presta a normalizar o tônus simpático no coração e, em conseqüência normalizar a FC de repouso, enquanto que no rato normotenso, em que ocorre a verdadeira

bradicardia de repouso, o EF altera o funcionamento do marcapasso cardíaco (NEGRÃO e cols, 2001). Também foi demonstrado que a diminuição do tônus simpático sobre o coração ocorre sem modificação do tônus vagal ou da FC intrínseca (NEGRÃO e cols., 1992). Com isso nota-se que os estudos realizados em várias espécies mostram-se contraditórios em relação ao aumento da atividade vagal após o EF. De qualquer forma, observa-se, em humanos e ratos hipertensos, que o EF produz diminuição dos níveis circulantes de norepinefrina (DUCAM e cols., 1985; GRASSI e cols., 1994).

Diante das considerações de que em animais e humanos hipertensos os mecanismos de controle da PAM apresentam-se alterados e que o exercício físico é eficiente em reduzir os altos níveis de PA, sobretudo na hipertensão leve ou limítrofe, por interferir na sensibilidade do barorreflexo e modular os efeitos pressores produzidos pelo SRA. Considerando ainda que o modelo de hipertensão renovascular de Goldblatt é caracterizado por apresentar níveis elevados de Ang II circulante que pode estar relacionado a uma ação central de Ang II sobre o SNS. Atentando também pra o fato de não existirem dados na literatura referentes ao efeito da atividade física sobre a reatividade neuronal da CVLM na hipertensão renovascular 2R1C. Considerando sobretudo estudos de Becker e cols, 2005, que mostraram que o EF é capaz de alterar a responsividade dos neurônios da RVLM, hipotetizamos que as alterações na atividade simpática induzidas pelo EF podem estar relacionadas também a uma alteração da responsividade dos neurônios da CVLM à Ang II. Para testar esta hipótese, no presente estudo, nós avaliamos a participação do SRA no controle da PA, na sensibilidade da bradicardia barorreflexa e na reatividade da CVLM à Ang II e ao antagonista do receptor AT_2 em ratos com hipertensão renovascular sedentários ou ativos, uma vez que dados não publicados de nosso laboratório revelaram que não há alteração na reatividade da CVLM ao antagonista de receptor AT_1 .

OBJETIVOS

OBJETIVOS

2.1 Geral

Avaliar o efeito da atividade física sobre os diferentes parâmetros cardiovasculares em ratos com hipertensão renovascular (2R1C, modelo de Goldblatt, 30 dias).

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar o efeito da natação sobre a PA e FC, em ratos Fischer normotensos e com hipertensão renal 2R1C sedentários e submetidos à atividade física.
- Avaliar a sensibilidade da bradicardia reflexa em ratos Fischer normotensos e com hipertensão renal 2R1C sedentários e ativos.
- Avaliar as alterações no peso do coração e rins e perfil plasmático de uréia e creatinina em ratos normotensos e com hipertensão 2R1C sedentários e ativos.
- Avaliar o efeito da natação sobre o ganho de peso e a ingestão hídrica em ratos normotensos e com hipertensão 2R1C sedentários e ativos.
- Avaliar através de análises histológicas alterações na morfologia cardíaca e renal em ratos normotensos e com hipertensão renal, sedentários e ativos.
- Avaliar o efeito da administração intravenosa e de microinjeções de de Ang II e de seu antagonista de receptor AT_2 , PD 123319 na CVLM em ratos Fischer normotensos e com hipertensão renal 2R1C sedentários e ativos.
- Avaliar o efeito do bloqueio de receptores AT_2 na CVLM pelo PA123319 após microinjeções sucessivas de Ang II na CVLM.

MATERIAIS E MÉTODOS

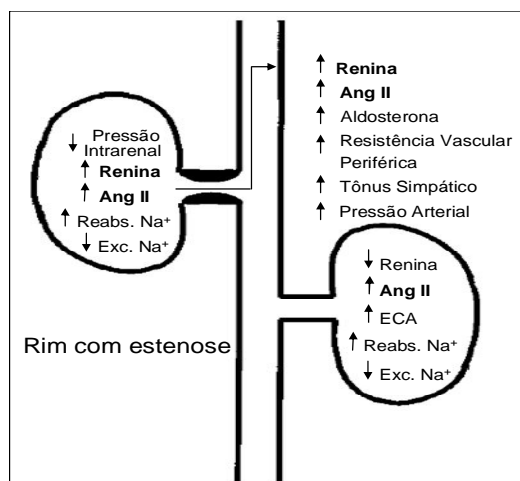
3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Animais

Foram utilizados neste estudo ratos Fischer machos, pesando entre 150 e 200g, provenientes do Laboratório de Nutrição Experimental da Escola de Nutrição da Universidade Federal de Ouro Preto.

3.2. Cirurgia para o Desenvolvimento da Hipertensão Renovascular

Para produção da hipertensão arterial foi utilizado o método descrito por GOLDBLATT e cols., 1934, denominado 2 rins 1 clip, (2R1C). Os ratos (150 – 200g) foram submetidos a jejum de 24 horas, com livre acesso à água. No dia da cirurgia, sob anestesia produzida pela solução de cetamina e xilazina (50 mg/ kg e 5 mg/ kg, ip, respectivamente) os animais foram colocados em decúbito dorsal em uma prancha cirúrgica, e submetidos a tricotomia e assepsia da região abdominal. Em seguida foi feita uma incisão mediana de 4 a 6 cm abaixo do processo xifóide. Foram colocados retratores bilateralmente na incisão cirúrgica e as alças intestinais foram deslocadas, em seguida a artéria renal esquerda foi isolada com o auxílio de pinças e cotonetes. Um clip de prata 950 (que contém 5% de liga de cobre e apresenta ótimo grau de dureza) apresentando 8 mm de comprimento e 2 mm de largura, em forma de U, cuja abertura havia sido previamente fixada através do uso de um calibrador, era colocado ao redor da artéria renal. O grau de constricção do clip escolhido era de 0,20 mm de diâmetro interno, de acordo com BRITTO e cols., 1997, que mostraram que este grau de constricção proporcionava maior índice de obtenção de PA > 130 mmHg (nível de pressão escolhida para selecionar os animais hipertensos). A Figura 1, abaixo, ilustra o momento da implantação do clip.



Adaptado de Navar e cols., 1998.

Figura 1 – Figura ilustrativa da cirurgia para produção da hipertensão 2R1C.

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

Em todos os animais o abdômen foi suturado com pontos contínuos, envolvendo a camada muscular e a pele. Ao final dos procedimentos cirúrgicos, em todos os animais era administrado antibiótico (0,01 ml/ 100 g do peso corporal) (pentabiótico veterinário/ FORT DODGE).

3.3. Exercício Físico

Após 4 dias da cirurgia, os ratos 2R1C e Sham, com livre acesso à água e comida, foram separados em dois grupos experimentais, sedentários e submetidos à atividade física aeróbica de baixa intensidade (natação livre sem carga). A atividade era realizada 5 vezes por semana durante quatro semanas. No primeiro dia a duração da sessão era de 20 minutos, no segundo dia 40 minutos, e a partir do terceiro dia os animais nadavam 60 minutos até completarem 20 sessões de exercícios. A Figura 2, abaixo, ilustra o protocolo de atividade física utilizada.

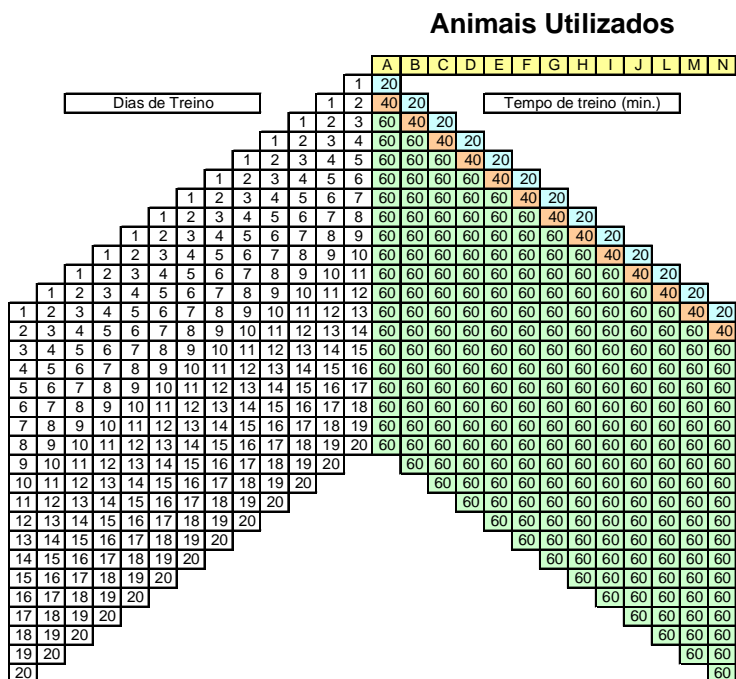


Figura 2 – Figura ilustrativa do protocolo de atividade física utilizada: as letras indicam os animais utilizados. Note que cada animal se exercitava inicialmente por 20 min., no segundo dia por 40 min. e do terceiro ao vigésimo dia por 60 min.

O exercício era realizado em tanques coletivos de 38 por 60 cm de largura e 50 cm de profundidade, a temperatura da água era mantida em $30 \pm 2^\circ\text{C}$, através do uso de um termostato. Os exercícios foram realizados simultaneamente em dois tanques com capacidade para cinco ratos cada um.

3.4. Avaliação Indireta da PA Através de Pletismografia de Cauda

A avaliação da PA por pletismografia de cauda iniciou-se a partir da primeira semana após a cirurgia, tanto nos ratos sedentários quanto nos ratos ativos. Estas medidas foram realizadas por quatro semanas.

O método utilizado para verificar a PA indireta dos animais foi proposto por WILLIAN e cols. (1939) e modificado por MAGALDI (1944). O método utilizado consiste em um sistema fechado contendo água, que sob pressão é ajustado a um manguito de borracha que envolve toda a porção distal da cauda do animal. Outro manguito de borracha conectado a uma coluna de mercúrio, envolve a porção proximal da cauda, e é responsável pela oclusão da artéria caudal. A Figura 3 ilustra a foto de um pletismógrafo.

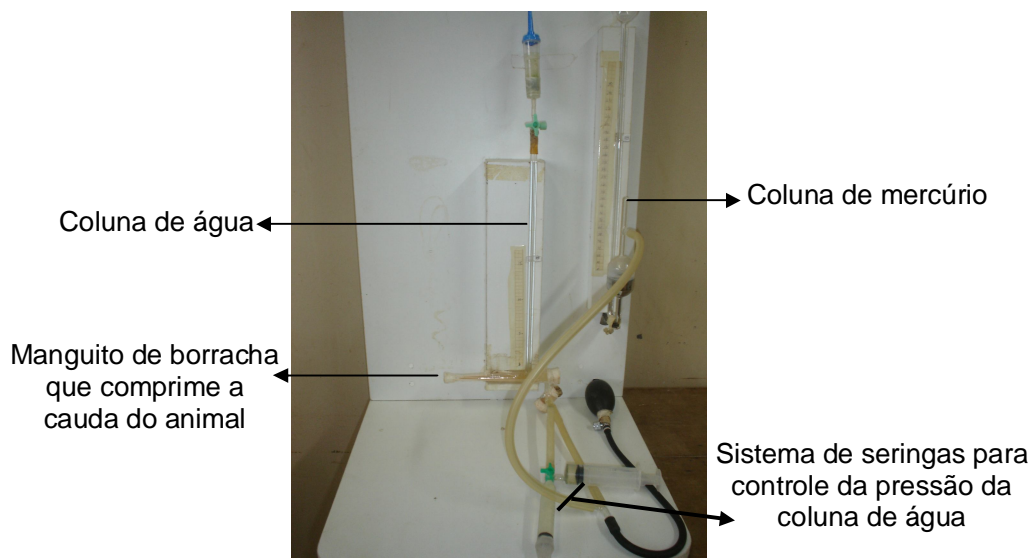


Figura 3 – Foto ilustrativa do sistema de pletismografia de cauda utilizado.

Os animais permaneciam, aproximadamente, por cerca de dois a três minutos em uma caixa de madeira contendo uma lâmpada de 150 watts para promover uma dilatação da artéria da cauda e facilitar a medida da PA. A seguir, os animais eram colocados em um sistema de contenção para proceder a medida. Neste sistema de contenção somente a cauda do animal era mantida exteriorizada, comprimia-se a cauda com o manguito de

borracha e insuflava-se o manguito da coluna de mercúrio. Em seguida, a pressão na coluna líquida era reduzida e o nível do líquido na coluna mantido a aproximadamente 10 cm de altura da cauda do animal. Posteriormente, a pressão no manômetro de mercúrio era reduzida lentamente ao mesmo tempo em que se observava alteração no nível do líquido na coluna do pletismógrafo, o que ocorria em função do aumento do volume de sangue na cauda. Neste mesmo instante era realizada a leitura da pressão na coluna de mercúrio que correspondia à PAM do animal.

3.5. Avaliação do Peso Corporal

O peso corporal dos animais foi verificado semanalmente, no mesmo dia em que era mensurada a PA por pletismografia de cauda.

3.6. Avaliação da Ingestão Hídrica

A ingestão hídrica de 24 horas era verificada anotando-se o volume de água presente no recipiente para fornecimento de água (bebedouro) colocada em cada gaiola contendo os animais e, subtraindo deste volume, o restante, vinte e quatro horas depois. Como geralmente ficavam de quatro a cinco animais em cada gaiola foi feita uma média de ingestão hídrica entre os animais. A ingestão hídrica foi medida 2 vezes por semana.

3.7. Confeção de Cânulas Vasculares

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

3.8. Procedimentos Cirúrgicos

3.8.1. Anestesia:

Após 30 dias da cirurgia, os animais 2R1C e Sham (sedentários e ativos) eram anestesiados com uretana (1,2 g/ kg, ip). Todos os procedimentos cirúrgicos e avaliações cardiovasculares diretas foram realizados com os ratos anestesiados.

3.8.2. Traqueostomia:

Os animais foram colocados em uma mesa cirúrgica em decúbito dorsal e submetidos a uma incisão mediana na região cervical anterior. A musculatura era divisionada e a traquéia exposta. Em seguida uma cânula de polietileno (PE 90) era introduzida na traquéia com a finalidade de manter as vias aéreas patentes.

3.8.3. Canulação e Isolamento de Artéria e Veia Femorais:

Para registro dos parâmetros cardiovasculares realizava-se uma pequena incisão na pele, separando a musculatura para localização do feixe vâsculo-nervoso femoral. As cânulas foram introduzidas na aorta abdominal, via artéria femoral e na veia cava inferior através da veia femoral, para administração de drogas. A seguir, as mesmas eram amarradas junto ao feixe com fio cirúrgico.

3.8.4. Exposição do Bulbo para Realização de Microinjeções na CVLM:

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

3.9. Registro Direto da PAM e FC

A avaliação dos diferentes parâmetros cardiovasculares (PAM, FC e sensibilidade do barorreflexo) foi realizada através do registro direto da PA nos animais anestesiados com uretana (1,2 g/ kg, iv) acoplados ao sistema computadorizado de aquisição de dados (Powerlab).

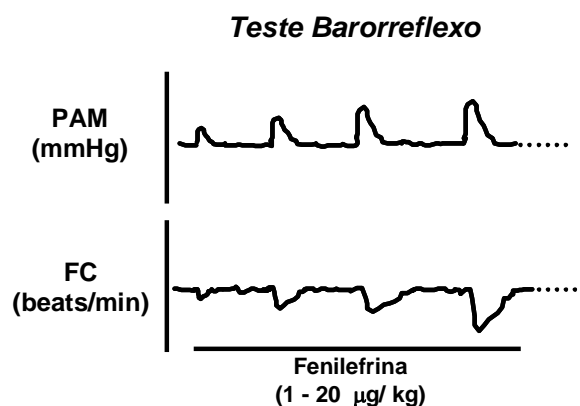
A pressão arterial era monitorada por um transdutor de pressão modelo Gould conectado a um amplificador (PM-1000, CWE). O sinal de pressão arterial pulsátil era derivado para um cardiômetro (PM-1000, CWE) para se obter a FC. A pressão arterial pulsátil e FC eram continuamente amostradas por um sistema de conversão analógico/ digital de 12 bits (Powerlab 4/ 20) a uma frequência de 800 Hz e armazenados em disco rígido (PC). Posteriormente, o sinal era processado por um software (Powerlab 4/ 20) para se obter a PAM, as características temporais e as alterações máximas dos parâmetros desejados.

Simultaneamente, a PAM e FC eram calculados a partir de pulsos de PA. Essas variáveis eram apresentadas simultaneamente em canais diferentes do monitor e armazenadas em disco rígido do computador.

3.10. Avaliação da Sensibilidade da Bradicardia Baroreflexa

A sensibilidade da bradicardia reflexa foi avaliada relacionando-se as alterações reflexas de FC induzidas por alterações transitórias da PAM. Para produzir alterações da PAM, os animais eram submetidos a injeções (em bolus) endovenosas (0,1 ml) de doses crescentes de fenilefrina que variavam de 0,5 a 40,0 µg, de maneira a se obter respectivamente respostas pressoras de aproximadamente 10, 20, 30, 40 mmHg. Um intervalo mínimo de um minuto era mantido entre as injeções, para permitir que a PAM e FC retornassem aos valores basais.

O pico das mudanças na FC ocorriam durante os primeiros 5-10 segundos e correspondiam à máxima alteração na PAM produzidas pela fenilefrina. A FC foi convertida em intervalo de pulso (IP, ms) através da fórmula: 60.000/ FC (Figura 4). O melhor ajuste da regressão linear foi extraído da média ± EPM para alterações de PAM e FC para cada dose de fenilefrina para cada animal. A curva de regressão linear foi usada como um índice de sensibilidade barorreflexa (ganho barorreflexo).



FC convertida em Intervalo de Pulso

$$\Delta IP \text{ (ms)} = \frac{60\,000}{FC_p} - \frac{60\,000}{FC_b}$$

Índice da Sensibilidade do Barorreflexo

$$\text{Índice (ms/ mmHg)} = \frac{\Delta IP}{\Delta PAM}$$

Figura 4 – Descrição das fórmulas utilizadas para a obtenção do Índice de Sensibilidade do Barorreflexo.

3.11. Procedimentos de Microinjeções na Superfície Ventrolateral Caudal

As microinjeções eram feitas através de micropipeta de vidro, 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, o mesmo volume de veículo (NaCl 0,9%) era injetado no local da microinjeção. Microinjeções unilaterais de Ang II (100 nL de uma solução 380 μ M), PD123319 (100 nL de uma solução 678 μ M) e salina (100 nL) foram efetuadas na área caudal na CVLM, tendo o óbex como ponto de referência ântero-posterior e lateral. Os parâmetros utilizados para se localizar a CVLM foram 0,7 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 Figura 5 indica o local onde foram realizadas as microinjeções, sendo: A = microinjeção de Ang II; B = microinjeção de PD123319 e C = microinjeção de salina.

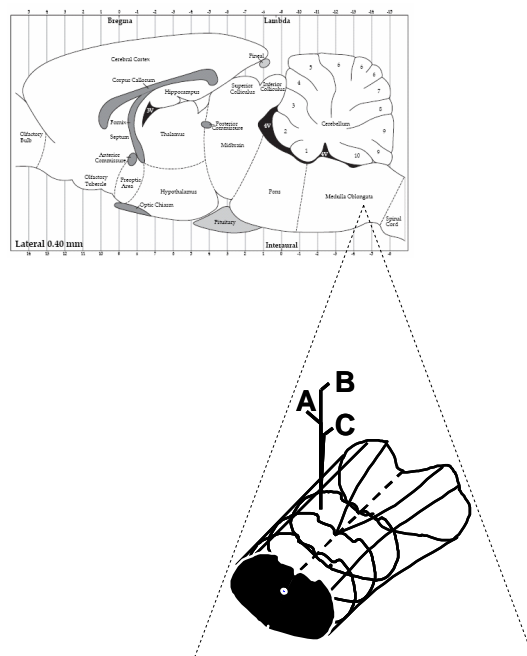


Figura 5 – Demonstração do local de realização das microinjeções na CVLM.

3.12. Injeções Intravenosas de Drogas em Ratos Anestesiados

Realizados os procedimentos de microinjeções na CVLM procedia-se a administração intravenosa de Ang II (0,05 ml de uma solução 240 μ M) antes e após a injeção do antagonista de receptor AT_2 , PD123319, (0,05 ml de uma solução 570 μ M) a fim de avaliar o efeito periférico das mesmas sobre o sistema cardiovascular. Como o volume

da injeção de Ang II e PD123319 era muito pequeno e fatalmente esses peptídeos iriam atingir somente a cânula e não a corrente sanguínea do animal, imediatamente injetávamos 0,05 ml de salina (NaCl 0,9%) para garantirmos que esses peptídeos teriam acesso à circulação.

3.13 Coleta de Órgãos e Amostras de Tecidos

Ao término dos experimentos os animais eram sacrificados por decaptação, submetidos a uma laparotomia mediana para ressecção dos tecidos. Foram coletados rins, coração, músculo sóleo, parte do músculo bíceps e cérebro. Durante o primeiro ano de trabalho os órgãos eram retirados, pesados (peso úmido) e colocados na estufa para que fosse avaliado o peso seco dos mesmos. Já no segundo ano de trabalho, os órgãos eram retirados, colocados em formol a 10% e conservados em recipientes protegidos da luz. Este material era utilizado para análise histológica. A Figura 6 mostra fotos do músculo sóleo (Painel B) e do músculo bíceps (Painel D) respectivamente, no momento da retirada; pata traseira (Painel A) e pata dianteira (Painel C).

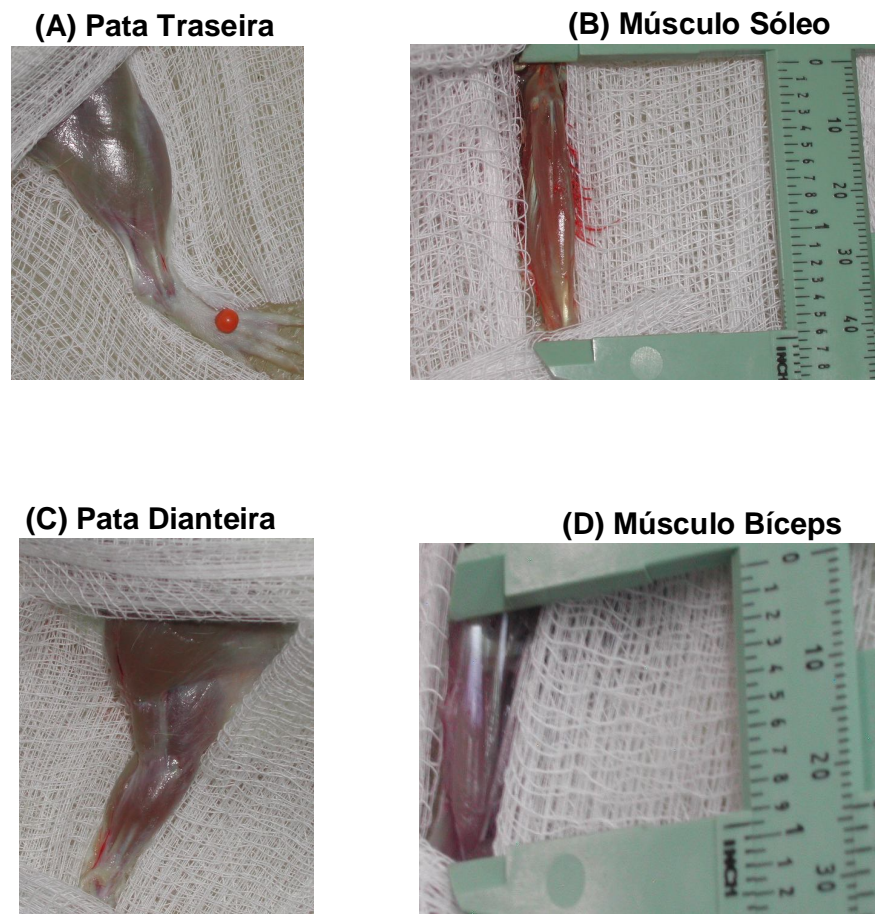


Figura 6 – Fotos ilustrativas do momento da retirada dos músculos sóleo e bíceps.

3.14. Coleta de Plasma

Em outro grupos de animais 2R1C e Sham, sedentários e ativos, após 4 semanas das cirurgias (2R1C ou Sham) os animais foram decaptados, sem anestesia e amostras de sangue foram coletadas em tubos de polietileno (eppendorf) contendo heparina sódica (25.000 UI/ 5 mL - Roche) para dosagem de uréia e creatinina. Os eppendorfs eram mantidos em gelo e o sangue era imediatamente centrifugado a 4°C/ 2.500 rpm/ 20 min e o plasma rapidamente separado e estocado a -20°C até o processamento das amostras.

3.15. Dosagens de Creatinina

Com a intenção de avaliarmos a função renal e também as alterações bioquímicas provocadas pelo exercício físico foram realizadas dosagens de creatinina.

A creatinina e outros componentes do soro reagem com a solução de picrato em meio alcalino, formando um complexo de cor vermelha que é medido fotometricamente.

A adição de acidificante abaixa o pH para 5,0, promovendo a decomposição do picrato de creatinina, permanecendo inalterada a cor derivada dos cromogêneos, que também é medida fotometricamente. A diferença entre as duas leituras fornece o valor da creatinina verdadeira (TONKS, 1972).

Para a dosagem utilizou-se 125 µl de plasma. Após homogeneização do plasma e dos reagentes, fez-se a incubação destes em banho-maria a 37°C por 10 minutos. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 510 nm determinando-se a absorbância A_1 . Adicionou-se 50µl de acidificante e após 5 minutos em temperatura ambiente, determinou-se a absorbância A_2 em espectrofotômetro a 510nm.

Para a obtenção da concentração, subtraiu-se da absorbância A_2 da A_1 utilizando-se um padrão de creatinina de 4mg/dl. (TONKS, 1972).

3.16. Dosagens de Uréia

Na intenção de usar a uréia como marcador biológico de intensidade de treinamento físico, foi realizada a dosagem de uréia plasmática de ratos hipertensos e normotensos, sedentários e ativos. A uréia é hidrolisada pela urease a íons de amônia e CO_2 . Em meio alcalino, os íons amônia reagem a salicinato e hipoclorito de sódio, sob a ação catalisadora do nitroprussiato de sódio, para formar o azul de indofenol. A absorbância do complexo azul formado, medida em 600nm, é diretamente proporcional à concentração de uréia na amostra. (TONKS, 1972).

Foram retirados 10 µl de plasma que foram adicionados a 1000 µl de urease tamponada e homogeneizados. Esta mistura era levada ao banho-maria a 37°C por 5 minutos. A leitura era realizada em espectrofotômetro a 600 nm. Para se obter a concentração da amostra, utilizou-se um padrão de 70mg/ dl (TONKS, 1972).

3.17. Drogas Utilizadas

3.17.1. Anestésicos:

Quetamina - Syntec do Brasil Ltda

Xilazina - Divisão Vetbrands Saúde Animal

Uretana - Sigma Chemical Co, St, Louis, USA

3.17.2. Demais drogas:

Angiotensina II – Bachem (Torance, USA) ou Península Laboratórios (Belmont, USA)

PD123319 – Bachem (Torance, USA) ou Península Laboratórios (Belmont, USA)

Phenilefrina Hidroxychloride - Sigma Chemical Co, St, Louis, USA

3.18 Preparo de Soluções

O agonista adrenérgico, L-Fenilefrina (sal cloridrato), foi preparado em soluções de sete concentrações diferentes (0,5 µg/ ml; 1,0 µg/ ml; 2,5 µg/ ml; 5,0 µg/ ml; 10 µg/ ml, 20 µg/ ml e 50 µg/ ml). Estas soluções foram aliqüotadas em tubos de polietileno Eppendorf e permaneceram congeladas até o momento do uso.

Os peptídeos, Ang II e PD 123319 eram dissolvidos em solução salina (NaCl 0,9%) na concentração de 2 mg/ ml e 3,2 mg/ ml, respectivamente, e aliqüotadas em 10 µl em tubos eppendorf e mantidos a - 20°C (solução estoque). No dia do experimento a solução final de uso era preparada a partir da solução estoque pela adição de 40 µl de salina estéril. A dose dos peptídeos e antagonistas utilizados nesse estudo foi escolhida com base em estudos anteriores (SILVA e cols., 1993; FONTES e cols., 1994; SANTOS e cols., 1994; ALZAMORA e cols., 2002 e 2006).

3.19. Verificação Histológica

Ao final de cada experimento, os animais eram sacrificados por decaptação e o cérebro era removido e acondicionado em recipiente protegido da luz contendo solução de formol a 10%.

Em seguida foram feitos cortes seriados de 50 μm de espessura do bulbo utilizando-se um criostato (Leica CM 1850). As fatias eram dispostas em lâminas de vidro previamente gelatinadas. Após secagem (24 h) as lâminas eram coradas através da técnica de coloração pelo vermelho neutro. A localização do sítio das microinjeções nos cortes histológicos era realizada com auxílio de microscópio e tinha como referência os diagramas do Atlas de PAXINOS e WATSON, 1986. Posteriormente, os cortes mais representativos de cada grupo eram visualizados em uma lupa (Leica MZ6) e em seguida fotografados.

A colheita de outros tecidos (coração, rins, músculo sóleo e bíceps) para análise histológica também era realizada ao final dos experimentos. Neste caso os tecidos também eram acondicionados em recipiente protegido da luz contendo solução de formol a 10%. Em seguida, o material era processado em processador histológico (OMA Metalúrgica) através de banhos sucessivos com duração de 60 minutos de álcool (70%, 80% e 90%), álcool absoluto, xilol e parafina, respectivamente. Posteriormente este material era fixado em blocos de parafina, cortados na espessura de 4 μm , dispostos em lâminas e corados com hematoxilina e eosina. Todo o processo de coloração e montagem de lâminas era realizado em capela (GP Científica).

Para a realização da análise histológica foram observadas algumas alterações patológicas características de animais hipertensos previamente descritas na literatura (WANG e cols., 2001 e EVANGELISTA e cols., 2003), são elas:

- Rins: Congestão, Degeneração tubular focal, Esclerose glomerular, Fibrose, Dilatação tubular, Inflamação e Deposição protéica.
- Coração: Espessamento da parede do ventrículo, Espessamento da parede do vaso, Degeneração, Fibrose, Inflamação ventricular focal.

A análise histológica foi realizada de forma qualitativa e subjetivamente. Estabelecemos como padrão de normalidade a ausência de qualquer alteração, para alterações discretas foi estabelecido que o órgão deveria apresentar 1/3 das alterações, para moderada 2/3 e para acentuado 100% das alterações deveriam estar presentes. Para cada grupo experimental foi estabelecido um número de amostra de 3 animais. A quantificação das alterações foi feita através da classificação por cruzes, sendo que cada cruz possuía um valor de 11%.

3.20. Análise Estatística

Todos os resultados foram expressos com médias \pm EPM. Para observações entre animais diferentes foi utilizado o teste “t” de Student não pareado. Comparações entre diferentes grupos foram avaliadas por one-way ou two-way ANOVA seguido de teste de Bonferroni ou Dunnet quando apropriado. Estas análises foram realizadas no software Graphpad Prism (versão 4.00). Foram consideradas diferenças significativas para $p < 0.05$.

3.21. Protocolos Experimentais

3.21.1. Avaliação da Sensibilidade da Bradicardia Reflexa

Os animais eram anestesiados, submetidos aos procedimentos cirúrgicos e posicionados no aparelho extereotático. A seguir, iniciava-se o registro da pressão arterial. Após um período de 15 minutos a micropipeta de vidro era posicionada na área do bulbo correspondente à CVLM. Observava-se as alterações típicas transitórias de PAM e FC, que auxiliavam para determinar a localização correta da pipeta. Após um período de 20 minutos era iniciado o teste do barorreflexo. A sensibilidade do reflexo pressorreceptor foi avaliada relacionando-se as alterações reflexas de FC induzidas por alterações transitórias da PAM. Para produzir alterações da PAM, os animais foram submetidos a injeções intravenosas (em *bolus*) de doses (0,1ml) com concentrações crescentes (0,5 a 50,0 μ g/mL) de fenilefrina a fim de se obter respostas pressoras. Um intervalo mínimo de um minuto ou mais foi mantido entre as injeções, para permitir que a PAM e a FC retornassem aos valores basais. A Figura 7 sumariza o protocolo utilizado.

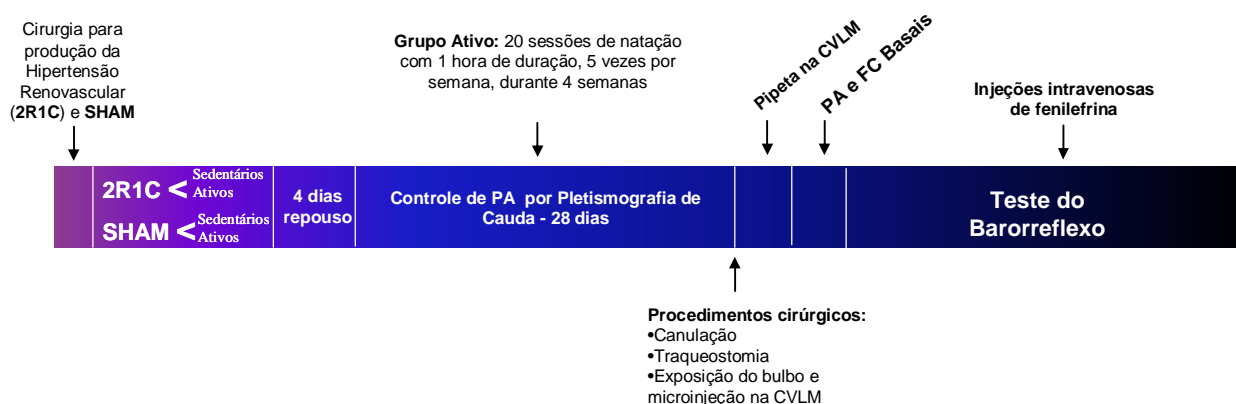


Figura 7 – Protocolo experimental para a avaliação da bradicardia reflexa.

3.21.2. Avaliação dos Efeitos Cardiovasculares Produzidos pela Microinjeção de Ang II e PD123319 no Bulbo Ventrolateral Caudal

Os animais eram anestesiados, submetidos aos procedimentos cirúrgicos e posicionados no aparelho extereotático. A seguir, iniciava-se o registro da pressão arterial. Após um período de 15 minutos a micropipeta de vidro era posicionada na área do bulbo correspondente à CVLM. Observava-se as alterações típicas transitórias de PAM e FC, que auxiliavam para determinar a localização correta da pipeta. Microinjeção dos peptídeos em áreas adjacentes aos locais estudados não produziam alterações significantes de PAM. Após um período de 20 minutos e realizado o teste do barorreflexo, procedia-se a microinjeção de Ang II (380 μ M) e PD 123319 (678 μ M) ou salina (100 nL). Um intervalo de 20 minutos era mantido entre as microinjeções e a ordem das mesmas era alternada no mesmo grupo experimental. Apenas o lado esquerdo do bulbo era estudado em cada animal. Ao final dos experimentos o cérebro dos animais era removido para posterior análise histológica. A Figura 8 sumariza o protocolo utilizado:

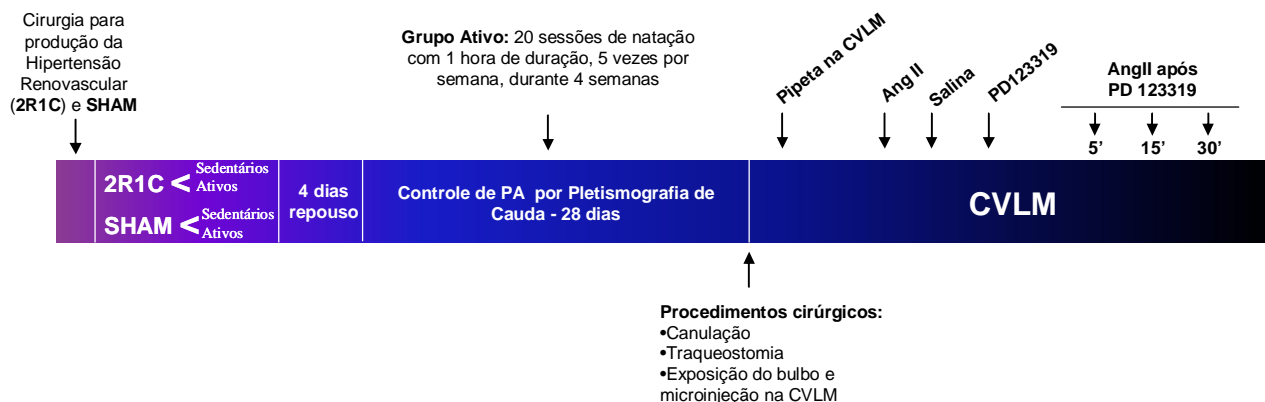


Figura 8 – protocolo experimental para a avaliação dos efeitos cardiovasculares produzidos pela microinjeção de Ang II e PD123319 na CVLM.

RESULTADOS

4. RESULTADOS

4.1 AVALIAÇÃO DE DIFERENTES PARÂMETROS DA HIPERTENSÃO RENOVASCULAR

4.1.1. Evolução da PA após Cirurgia para Produção da Hipertensão Renovascular 2R1C

Os valores de PA apresentados na Figura 9 e Tabela I foram avaliados por pletismografia de cauda durante 4 semanas em ratos sedentários e ativos, normotensos (Sham) e com hipertensão renovascular (2R1C).

Como mostrado na Figura 9 e Tabela I, os valores de PA dos ratos 2R1C sedentários (105 ± 2 mmHg, $n=11$) e 2R1C ativos (118 ± 4 mmHg, $n=17$) foram significativamente superiores aos dos animais Sham sedentários (93 ± 3 mmHg, $n=12$) já na primeira semana após a realização da cirurgia 2R1C. Da mesma forma que observado na primeira semana, na segunda semana após as cirurgias (Sham ou 2R1C) os valores de PA dos ratos 2R1C sedentários (107 ± 3 mmHg, $n=11$) e 2R1C ativos (126 ± 3 mmHg, $n=17$) foram superiores aos dos animais Sham sedentários (94 ± 3 mmHg, $n=12$). Assim, na primeira e segunda semana após as cirurgias (Sham e 2R1C) os animais 2R1C ativos apresentaram níveis de PA significativamente maiores que os animais 2R1C sedentários.

Na terceira semana após as cirurgias (Sham ou 2R1C), os valores de PA dos animais 2R1C sedentários (142 ± 5 mmHg, $n=11$; $p<0,05$) e 2R1C ativos (133 ± 3 mmHg, $n=17$; $p<0,05$) foram similares entre si e superiores aos dos animais Sham sedentários (98 ± 2 mmHg, $n=12$).

Na quarta semana após a realização das cirurgias (Sham e 2R1C) os valores de PA dos animais hipertensos sedentários (153 ± 6 mmHg, $n=11$; $p<0,05$) e ativos (129 ± 4 mmHg, $n=17$; $p<0,05$) foram superiores aos apresentados pelos animais Sham sedentários (103 ± 3 mmHg, $n=12$). Porém, no grupo 2R1C observamos uma redução significativa entre os valores de PA no grupo ativo quando comparados aos animais hipertensos sedentários, mostrando que o exercício físico reduz os valores de PA em animais hipertensos. Em todas as semanas em que foram avaliadas a PA, não foi observada diferença significativa entre os animais Sham sedentários e ativos (Figura 9 e Tabela I).

PRESSÃO ARTERIAL MENSURADA ATRAVÉS DA PLETISMOGRAFIA DE CAUDA

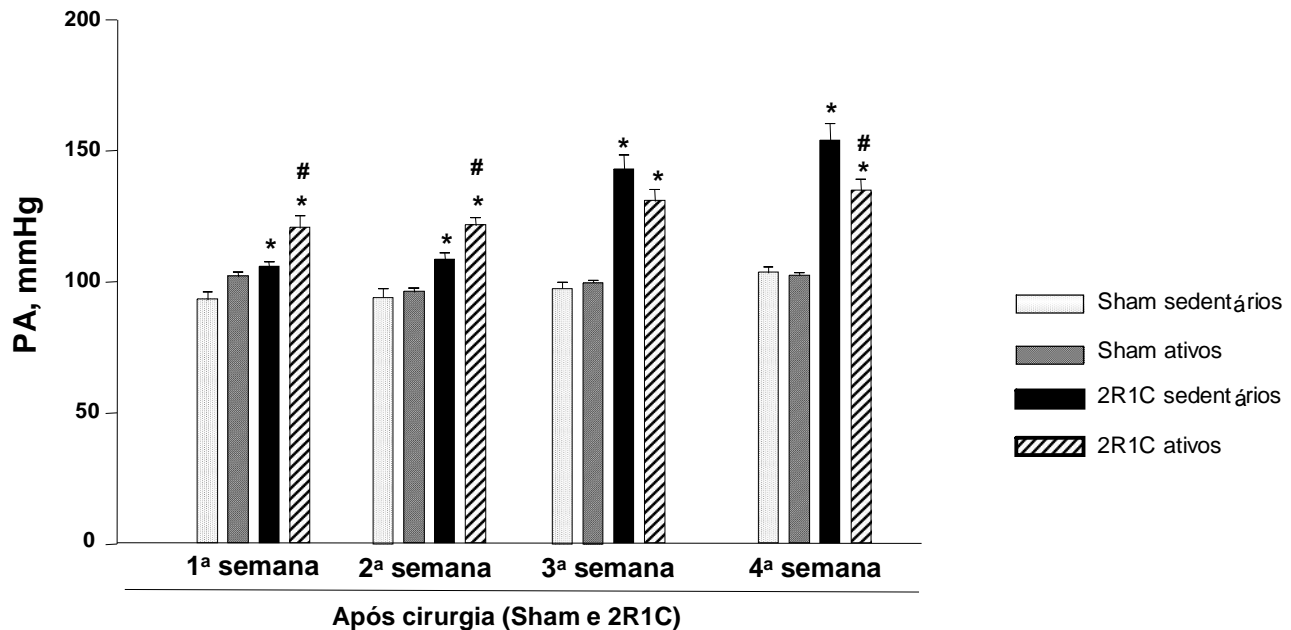


Figura 9 - Pressão arterial (PA, mmHg) mensurada através de pletismografia de cauda em ratos acordados (Sham sedentários, n=12; Sham ativos, n=13; 2R1C sedentários, n=11 e 2R1C ativos, n=17) na 1ª, 2ª, 3ª e 4ª semana após as cirurgias. *p<0,05 em comparação aos ratos Sham sedentários. #p<0,05 em comparação aos ratos 2R1C sedentários (teste “t” de Student para observações não pareadas).

Tabela I: Valores da pressão arterial (PA, mmHg) mensurada através da pletismografia de cauda

	1ª Semana	2ª Semana	3ª Semana	4ª Semana
SHAM Sedentário (n=12)	93 ± 3	94 ± 3	98 ± 2	103 ± 3
SHAM Ativo (n=13)	102 ± 2	96 ± 2	100 ± 2	102 ± 1
2R1C Sedentário (n=11)	105 ± 2*	107 ± 3*	142 ± 5*	153 ± 6*
2R1C Ativo (n=17)	118 ± 4*#	126 ± 3*#	133 ± 3*	129 ± 4*#

Valores expressos em média ± erro padrão da média. * p<0.05 em comparação aos ratos Sham sedentários. #p<0,05 em comparação aos ratos 2R1C sedentários (teste “t” de Student para observações não pareadas).

4.2. Avaliação da Ingestão Hídrica

Para avaliar o efeito do exercício físico sobre a ingestão hídrica em animais normotensos e hipertensos submetidos à atividade física através da natação, foi realizada semanalmente, durante 4 semanas, o controle da ingestão de água dos animais (Figura 10 e Tabela II). As medidas eram realizadas duas vezes na semana. Como cada grupo era dividido em duas gaiolas contendo de 4 a 5 animais, para avaliar a ingestão hídrica do grupo era feita uma média de ingestão hídrica entre os animais. Sendo assim, o EPM observado é de quatro medidas.

Como mostrado na Figura 10, na primeira semana após as cirurgias (Sham e 2R1C) a ingestão hídrica dos animais do grupo 2R1C ($52,5 \pm 0,5$ ml, $n=10$; ratos sedentários e $54,7 \pm 2,3$ ml, $n=10$; ratos ativos; $p<0,05$) e os ratos Sham ativos ($36,9 \pm 0,3$ ml; $n=10$; $p<0,05$) foi maior do que a ingestão hídrica dos ratos Sham sedentários ($29,5 \pm 0,5$ ml; $n=10$). Da mesma forma observada na primeira semana, na segunda semana a ingestão hídrica dos animais do grupo 2R1C (41 ± 1 ml; $n=10$; ratos sedentários e $44,9 \pm 4,5$ ml; $n=10$; ratos ativos; $p<0,05$) e os ratos Sham ativos ($35,1 \pm 0,5$ ml; $n=10$; $p<0,05$) foi maior do que a observada nos ratos Sham sedentários ($30,1 \pm 0,1$ ml; $n=10$).

Porém, na terceira semana após as cirurgias, somente os animais do grupo 2R1C apresentaram uma ingestão hídrica (47 ± 1 ml, $n=10$; ratos sedentários e $41,7 \pm 1,7$ ml, $n=10$; ratos ativos; $p<0,05$) maior do que a dos ratos Sham sedentários ($30,5 \pm 0,5$ ml; $n=10$). Os animais do grupo Sham, sedentários e ativos ($33,9 \pm 1,5$ ml; $n=10$), apresentaram valores semelhantes de ingestão hídrica neste período.

Na quarta semana do protocolo experimental, somente os animais 2R1C sedentários ($48,5 \pm 0,5$ ml; $n=10$; $p<0,05$) apresentaram uma ingestão hídrica superior a dos animais Sham sedentários ($30,5 \pm 0,5$ ml; $n=10$).

INGESTÃO HÍDRICA

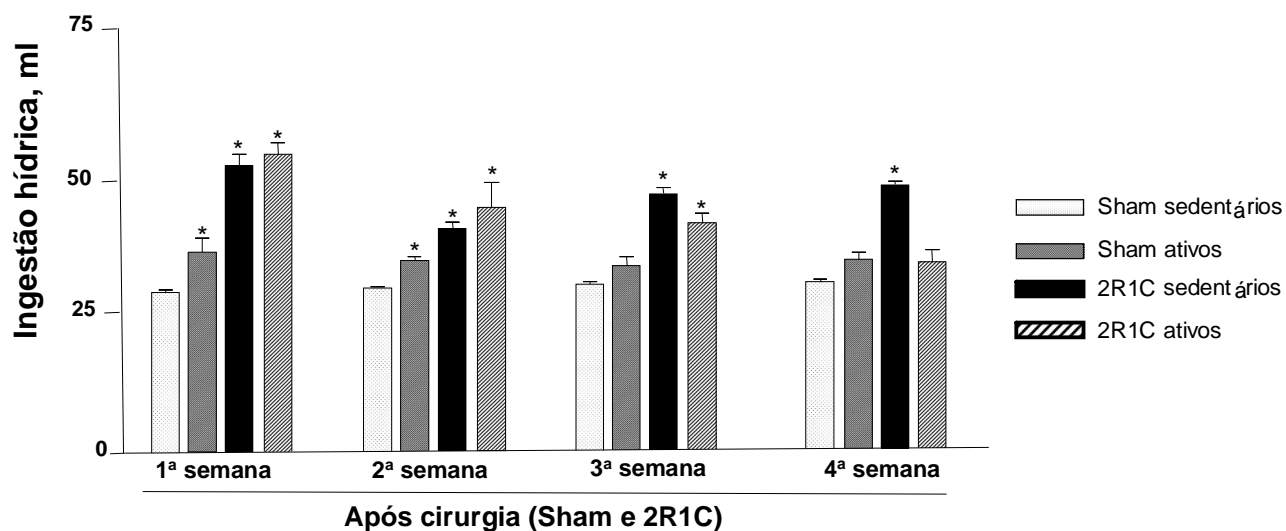


Figura 10 - Avaliação da Ingestão hídrica (ml) em animais Sham sedentários, (n=10); Sham ativos, (n=10); 2R1C sedentários, (n=10) e 2R1C ativos, (n=10) na 1ª, 2ª, 3ª e 4ª semana após as cirurgias (Sham ou 2R1C). *p<0,05 em comparação aos ratos Sham sedentários (teste “t” de Student para observações não pareadas).

Tabela II: Valores da ingestão hídrica (ml) avaliados por quatro semanas após cirurgias

	1ª Semana	2ª Semana	3ª Semana	4ª Semana
SHAM Sedentário (n=10)	29,5 ± 0,5	30,1 ± 0,1	30,5 ± 0,5	30,5 ± 0,5
SHAM Ativo (n=10)	36,9 ± 0,3*	35,1 ± 0,5*	33,9 ± 1,5	34,7 ± 1,5
2R1C Sedentário (n=10)	52,5 ± 0,5*	41,0 ± 1,0*	47,0 ± 1,0*	48,5 ± 0,5*
2R1C Ativo (n=10)	54,7 ± 2,3*	44,9 ± 4,5*	41,7 ± 1,7*	34,3 ± 2,3

Valores expressos em média ± erro padrão da média. * p<0.05 em comparação aos ratos SHAM sedentários (teste “t” de Student para observações não pareadas).

4.3 Avaliação do Peso Corporal dos Animais após as Cirurgias (Sham ou 2R1C)

Para avaliar o efeito do exercício físico sobre o peso corporal em animais normotensos e hipertensos durante o treinamento físico com natação, os animais hipertensos (2R1C) e normotensos (Sham) foram pesados semanalmente, a contar da data da realização das cirurgias 2R1C ou fictícia. A Figura 11 e a Tabela III apresentam os valores do peso corporal dos ratos após as cirurgias para produção da hipertensão renovascular 2R1C e Sham.

Como mostrado na A Figura 11 e na Tabela III os ratos 2R1C sedentários apresentam valores menores de peso tanto na primeira (188 ± 8 g, $n=11$; $p<0,05$) quanto na segunda semana (213 ± 9 g, $n=11$; $p<0,05$) após a cirurgia quando comparados aos animais Sham sedentários na primeira (217 ± 7 g, $n=12$) e segunda semana (237 ± 6 g, $n=12$) após a cirurgia. A partir da terceira semana os ratos 2R1C sedentários (251 ± 8 g, $n=11$) apresentaram pesos semelhantes aos ratos Sham sedentários (257 ± 8 g, $n=12$). Não foram observadas diferenças de peso nos demais grupos de animais quando comparados aos animais Sham sedentários.

A análise histológica qualitativa dos músculos bíceps e sóleo não apresentaram alterações significativas nos grupos submetidos á atividade física (2R1C e Sham) em relação aos animais sedentários (2R1C e Sham).

AVALIAÇÃO DO PESO CORPORAL

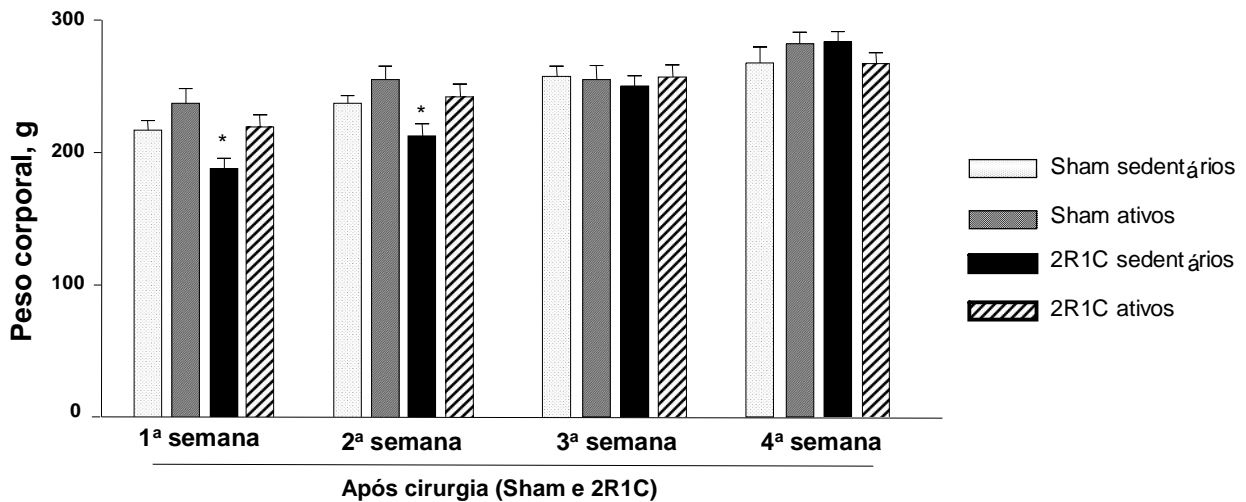


Figura 11 - Peso corporal (g) de ratos (Sham sedentários, n=12; Sham ativos, n=13; 2R1C sedentários, n=11 e 2R1C ativos, n=17) na 1ª, 2ª, 3ª e 4ª semana após as cirurgias). *p<0,05 em comparação aos ratos Sham sedentários (teste “t” de Student para observações não pareadas).

Tabela III: Valores do peso corporal (g) avaliados por quatro semanas após cirurgias

	1ª Semana	2ª Semana	3ª Semana	4ª Semana
SHAM Sedentário (n=12)	217 ± 7	237 ± 6	257 ± 8	268 ± 12
SHAM Ativo (n=13)	238 ± 11	256,1 ± 10	255 ± 11	282 ± 9
2R1C Sedentário (n=11)	188 ± 8*	213 ± 9*	251 ± 8	284 ± 8
2R1C Ativo (n=17)	214 ± 7	236 ± 8	249 ± 9	262 ± 7

Valores expressos em média ± erro padrão da média. * p<0.05 em comparação aos ratos SHAM sedentários (teste “t” de Student para observações não pareadas).

4.4. Avaliação Histológica e do Peso Seco dos Rins

Com a intenção de confirmar se a estenose da artéria renal (rim clipado) poderia ser um parâmetro para avaliar a hipertensão renovascular, foi avaliado o peso seco dos rins dos animais Sham e dos animais submetidos a cirurgia 2R1C.

A Figura 12 ilustra os rins dos ratos 30 dias após às cirurgias fictícia (Sham) (sedentário, painel A e Ativo, painel B), e para produção da hipertensão renovascular (2R1C) (sedentário, painel C e ativo, painel D).

A Figura 13 e Tabela IV mostra que o peso seco relativo dos rins esquerdo (clipado) dos animais 2R1C sedentários ($0.06 \pm 0,007$ g/ 100g; n=7; $p<0,05$) e dos animais 2R1C ativos ($0.05 \pm 0,004$ g/ 100g; n=10; $p<0,05$) foram menores do que o peso relativo dos rins esquerdo dos ratos Sham sedentários ($0.07 \pm 0,002$ g/ 100g; n=9) e dos ratos Sham ativos ($0.08 \pm 0,004$ g/ 100g; n=9).

Por outro lado, o peso seco relativo do rim direito (contralateral) dos ratos com hipertensão renovascular 2R1C sedentários ($0.1 \pm 0,004$ g/ 100g; n=7; $p<0,05$) e 2R1C ativos ($0.09 \pm 0,004$ g/ 100g; n=10; $p<0,05$) foi maior do que o peso seco relativo do rim direito dos ratos Sham sedentários ($0.07 \pm 0,002$ g/ 100g; n=9) e Sham ativos ($0.08 \pm 0,004$ g/ 100g; n=9).

Com o objetivo de verificarmos o grau de constrição da artéria renal nos ratos clipados (2R1C) sedentários e ativos, avaliamos o percentual de redução do rim esquerdo (clipado) em relação aos rim direito (não-clipado). Como mostram as Figuras 14 e a Tabela V, os ratos 2R1C sedentários (27 ± 7 %, n=5) apresentaram o percentual de redução do rim clipado semelhante aos ratos 2R1C ativos (39 ± 9 %, n=8), sendo que estas reduções foram significativamente maiores em relação ao percentual de redução dos rins dos animais Sham. Não houve diferença entre o percentual de redução do rim esquerdo nos ratos Sham sedentários (1 ± 2 %; n=6) e os ratos Sham ativos (2 ± 2 %; n=6).

A análise histológica das estruturas renais do rim esquerdo (não clipado) nos mostra que as alterações patológicas como esclerose glomerular (11%; n=3) e inflamação (11%; n=3) presentes no grupo Sham sedentário foram reduzidas no grupo Sham ativo, ou seja, este grupo apresentou ausência destas manifestações patológicas (0%; n=3; esclerose glomerular e 0%; n=3; inflamação). Foi observado um aumento da dilatação tubular nos ratos Sham ativos (44%; n=3). Não foi observada alteração aparente da congestão presente no grupo Sham ativo em relação ao grupo Sham sedentário (Figura 15, Painel A).

Já no grupo hipertenso, os ratos 2R1C ativos mostraram através da análise histológica que os parâmetros avaliados como congestão (22%; n=3), degeneração tubular focal (11%; n=3), fibrose (11%; n=3), inflamação (33%; n=3) e dilatação tubular (33%; n=3) apresentaram-se reduzidos em relação ao grupo 2R1C sedentários (44%, n=3; congestão; 33%, n=3; degeneração tubular focal; 33%, n=3; fibrose; 88%, n=3; inflamação e 55%, n=3;

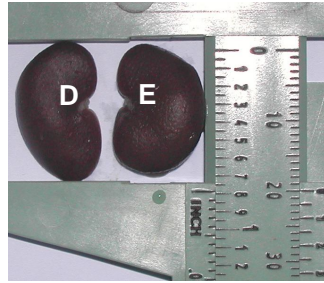
dilatação tubular). Foi observado um aumento na presença de esclerose glomerular no grupo 2R1C sedentário em relação ao grupo Sham sedentário, porém não houve diferença na presença de esclerose glomerular no grupo 2R1C sedentário em relação ao grupo 2R1C ativo. Com relação à presença de depósitos protéicos, apenas o grupo hipertenso sedentário teve essa alteração manifestada, sendo que esta foi observada tanto no rim esquerdo quanto no direito (Figura 15, Painel A). A Figura 16 ilustra cortes histológicos dos rins esquerdos de ratos Sham e 2R1C, sedentários e ativos.

Com relação à análise histológica do rim direito (não-clipado), no grupo Sham ativo, foi observada redução da congestão (0%; n=3), esclerose glomerular (11%; n=3) e inflamação (11%; n=3) quando comparado com os animais do grupo Sham sedentário (11% n=3, congestão; 22%, n=3; esclerose glomerular e 22%, n=3; inflamação). No grupo Sham ativo em relação à degeneração tubular focal (33%; n=3) e dilatação tubular (44%; n=3) foi observado aumento desses parâmetros em relação aos Sham sedentários (11%, n=3; degeneração tubular focal e 33%, n=3; dilatação tubular). De forma semelhante, no grupo 2R1C ativo houve aumento na manifestação de alguns parâmetros (33%, n=3; degeneração tubular focal; 44%, n=3; esclerose glomerular e 33%, n=3; inflamação) e redução na manifestação de outros, como congestão (0%; n=3) e fibrose (0%; n=3) quando comparamos os animais do grupo 2R1C sedentários (11%, n=3; congestão e 22%, n=3; fibrose). Com relação à dilatação tubular não houve alteração com relação a este parâmetro neste grupo de animais (Figura 15, Painel B). A Figura 17 ilustra cortes histológicos dos rins direitos de ratos Sham e 2R1C, sedentários e ativos.

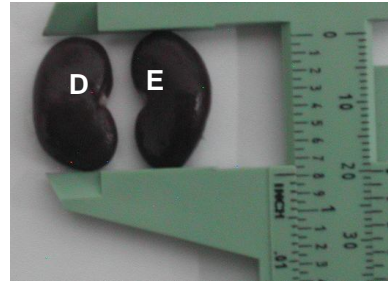
RINS DE RATOS 30 DIAS APÓS ÀS CIRURGIAS FICTÍCIA (SHAM) E PARA PRODUÇÃO DA HIPERTENSÃO RENOVASCULAR (2R1C)

RATOS SHAM

(A) Sedentário

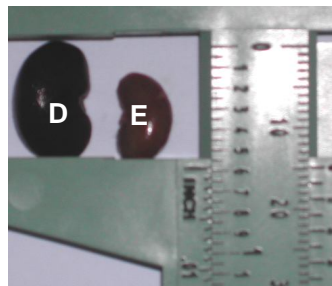


(B) Ativo



RATOS 2R1C

(C) Sedentário



(D) Ativo

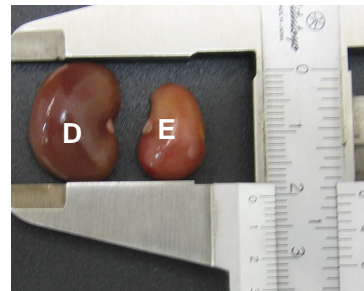


Figura 12 - Fotos ilustrando os rins (a fresco) dos ratos 30 dias após às cirurgias fictícia (Sham) (sedentário, painel A; e ativo, painel B) e 30 dias após a cirurgia para produção da hipertensão renovascular (2R1C) (sedentário, painel C; e ativo, painel D).

AVALIAÇÃO DO PESO SECO DOS RINS

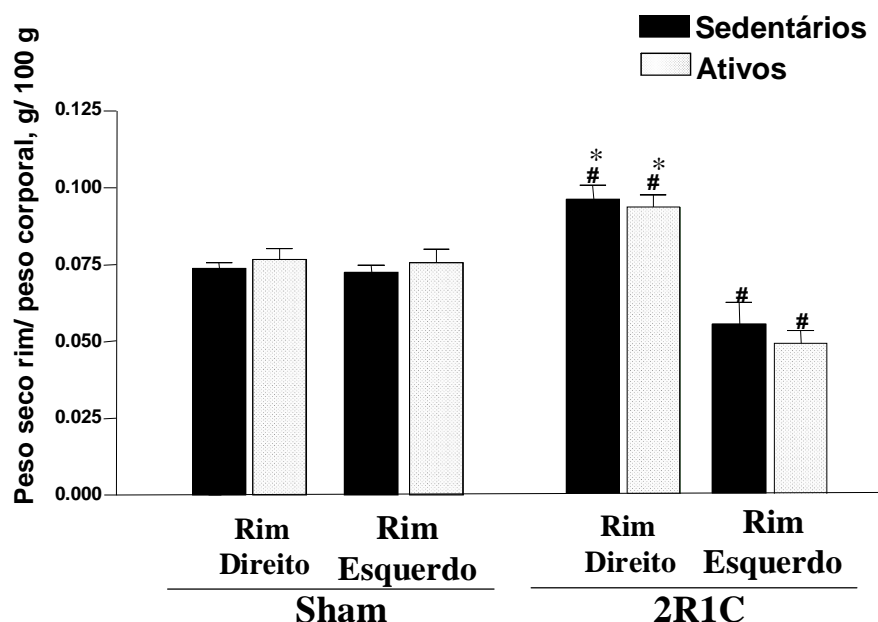


Figura 13 - Alterações do peso seco dos rins direito (não-clipado) e rins esquerdo (clipado) (g/ 100g de peso corporal) em ratos Sham sedentários (n=9) e ativos (n=9) e 2R1C sedentários (n=7) e ativos (n=10). *p<0,05 em comparação aos rins não clipados. #p<0,05 em comparação aos rins direito dos ratos Sham (teste “t” de Student para observações não pareadas).

Tabela IV: Valores do peso dos rins (g/ 100g do peso corporal)

	SHAM Sedentário	SHAM Ativo	2R1C Sedentário	2R1C Ativo
Rim Direito	0,07 ± 0,002 (n=9)	0,08 ± 0,004 (n=9)	0,1 ± 0,004 [#] (n=7)	0,09 ± 0,004 [#] (n=7)
Rim Esquerdo	0,07 ± 0,002 (n=9)	0,08 ± 0,004 (n=9)	0,06±0,007 ^{*#} (n=10)	0,05 ± 0,004 ^{*#} (n=10)

Valores expressos em média ± erro padrão da média. *p<0,05 em comparação aos rins não clipados. #p<0,05 em comparação aos rins direito dos ratos Sham (teste “t” de Student para observações não pareadas).

% DE REDUÇÃO DO RIM CLIPADO

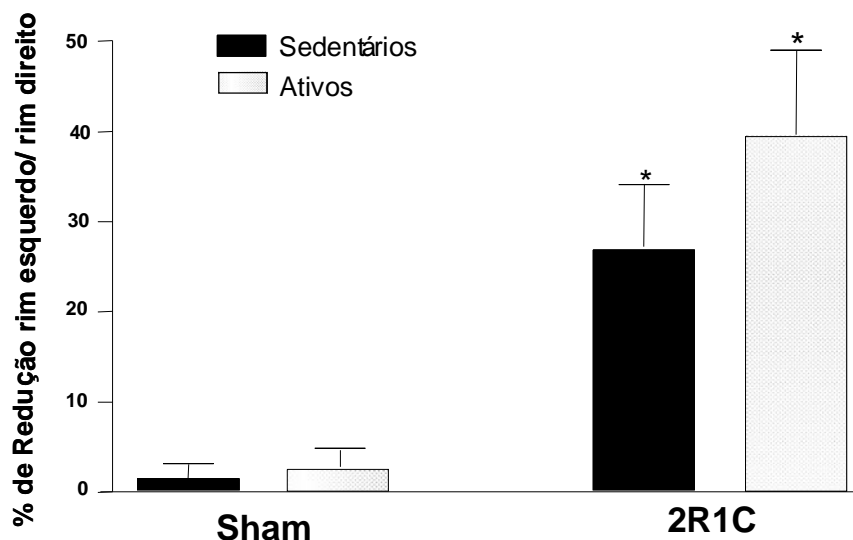


Figura 14 - Avaliação da % de redução do peso seco do rim esquerdo (clipado) [g/ 100g de peso corporal) (rim esquerdo/ rim direito x 100] de ratos Sham sedentários (n=5) ou ativos (n=8) ou 2R1C sedentários (n=6) ou ativos (n=6). *p<0,05 em comparação com ratos do grupo sham (teste “t” de Student para observações não pareadas). (ANOVA seguido de Bonferroni ou Dunnet quando apropriado).

Tabela V: Valores da % de redução do peso seco do rim esquerdo (clipado) [g/ 100g de peso corporal) (rim esquerdo/ rim direito x 100]

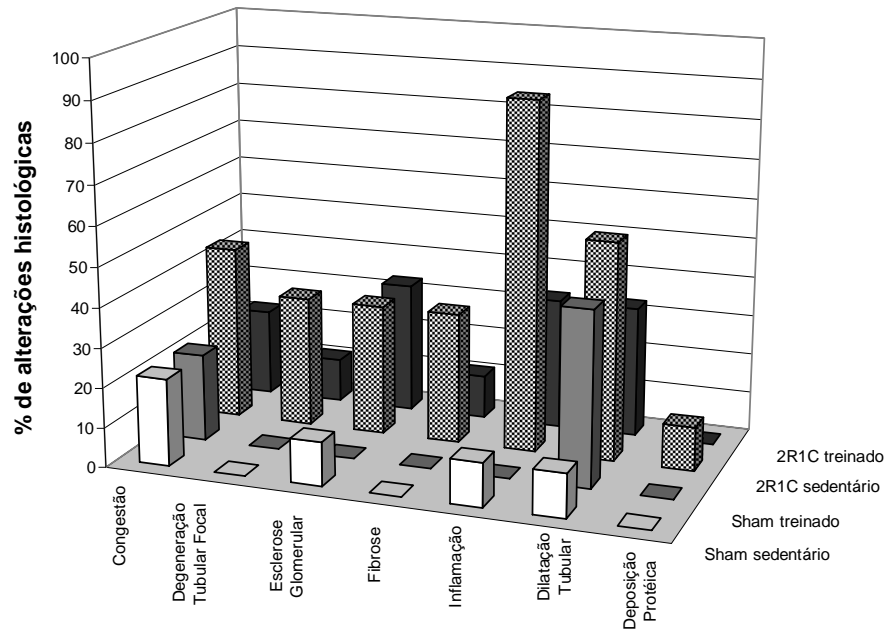
	SHAM	2R1C
Sedentários	1 ± 2 (n=6)	27 ± 7* (n=5)
Ativos	2 ± 2 (n=6)	39 ± 9* (n=8)

Valores expressos em média ± erro padrão da média. *p<0,05 em comparação com ratos do grupo sham (teste “t” de Student para observações não pareadas). (ANOVA seguido de Bonferroni ou Dunnet quando apropriado).

AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA DOS RINS

(A)

RIM ESQUERDO



(B)

RIM DIREITO

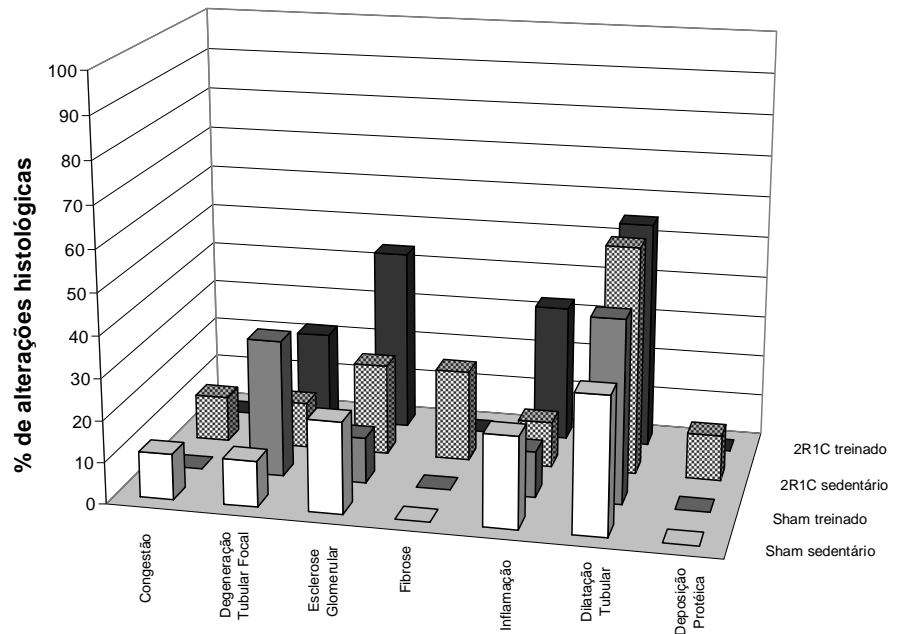


Figura 15 - Avaliação histológica do rim esquerdo (clipado) (Painel: A) e do rim direito (não-clipado) (Painel: B) de ratos Sham sedentários (n=3) ou ativos (n=3) ou 2R1C sedentários (n=3) ou ativos (n=3).

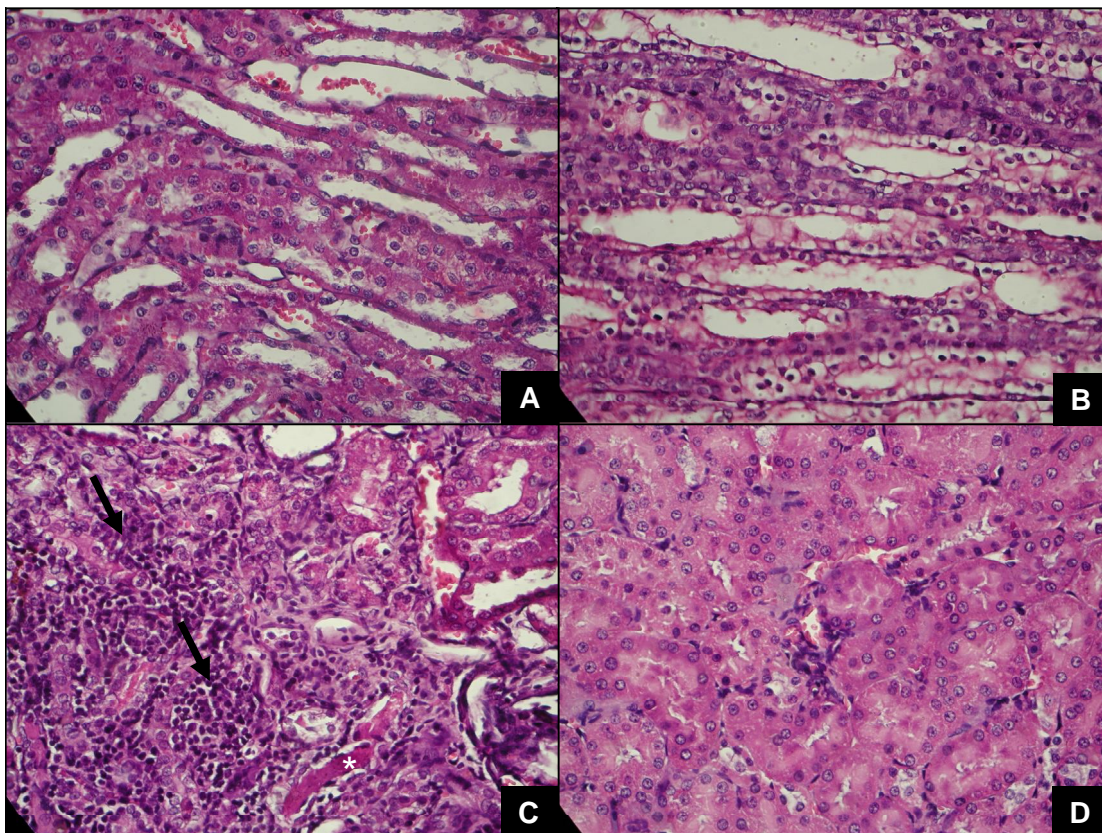


Figura 16 - Fotomicrografias da região medular do rim esquerdo (clipado) de ratos pertencentes aos grupos Sham e 2R1C, sedentários e ativos. Observa-se aspecto histológico compatível com quadro de normalidade no grupo Sham (A), dilatação e vacuolização tubular no grupo Sham ativo (B), processo inflamatório intenso (setas), degeneração tubular focal (*) no grupo 2R1C (C) e redução dessas alterações no grupo 2R1C ativo que mostrou raras células inflamatórias (D). Hematoxilina Eosina, X 600.

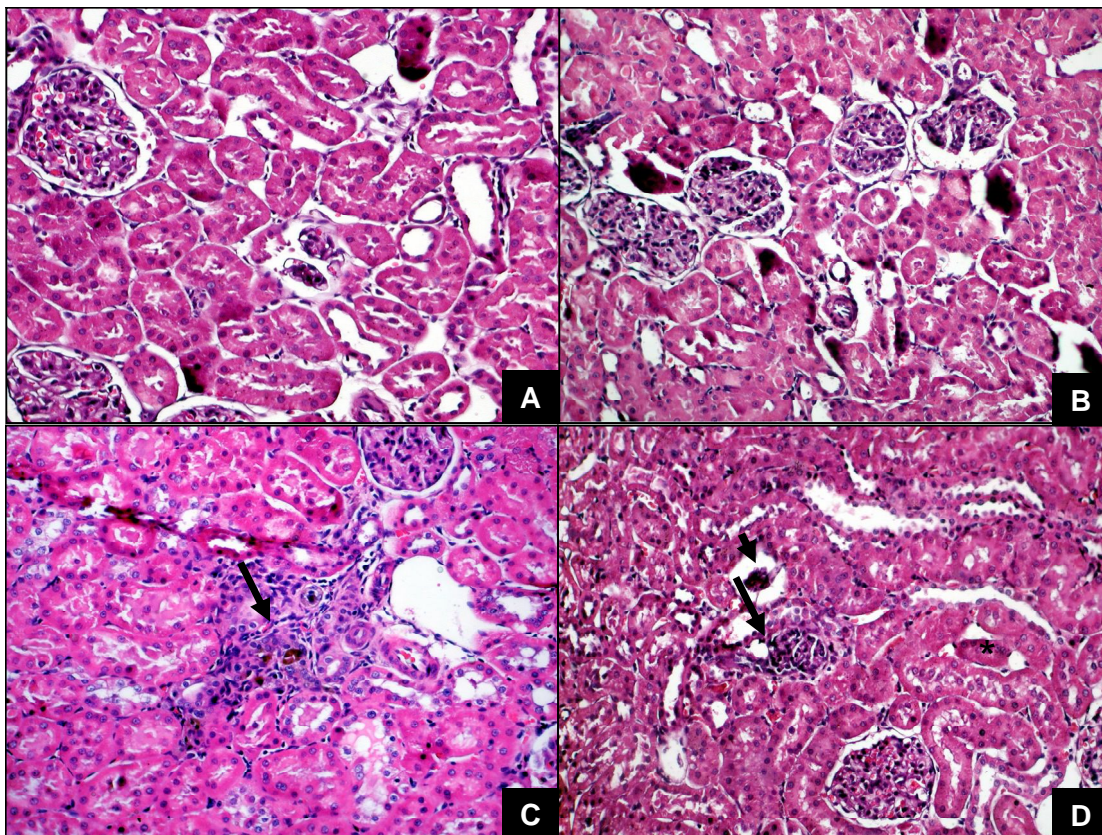


Figura 17 - Fotomicrografias da região cortical do rim direito (não-clipado) de ratos pertencentes aos grupos Sham e 2R1C, sedentários e ativos. Observam-se degeneração e dilatação tubular discretas no grupo Sham (A), moderadas no grupo Sham ativo (B); Fibrose e inflamação (seta) são observadas no grupo 2R1C (C) e degeneração (*) acompanhada de inflamação (seta) e esclerose glomerular (cabeça de seta) no grupo 2R1C ativo (D). Hematoxilina Eosina, X 600.

4.5. Avaliação Histológica e do Peso Seco do Coração

A Tabela VI mostra que os valores de peso seco do coração dos animais dos grupos 2R1C sedentário ($0,07 \pm 0,005$ g/ 100g; n=7), 2R1C ativo ($0,07 \pm 0,003$ g/ 100g, n=10) e Sham ativo ($0,07 \pm 0,002$ g/ 100g; n=9) foram similares e significativamente maiores do que o peso seco do coração dos animais Sham sedentários ($0,06 \pm 0,002$ g/ 100g, n=9).

Em relação ao peso seco dos ventrículos houve um aumento nos animais 2R1C sedentários ($0,068 \pm 0,005$ g/ 100g; n=7; $p < 0,05$) e 2R1C ativos ($0,063 \pm 0,003$ g/ 100g; n=10; $p < 0,05$) quando comparados ao peso seco dos ventrículos dos animais Sham sedentários ($0,06 \pm 0,002$ g/ 100g, n=9) (Figura 18). Não houve diferença entre o peso dos ventrículos dos animais Sham sedentários e Sham ativos.

Nos animais do grupo Sham ativo ($0,007 \pm 0,001$ g/ 100g; n=9; $p < 0,05$) houve um aumento do peso relativo dos átrios quando comparados aos ratos Sham sedentários ($0,005 \pm 0,001$ g/ 100g, n=9). Ao contrário, no grupo 2R1C não houve diferença do peso relativo dos átrios nos ratos 2R1C sedentários ($0,006 \pm 0,001$ g/ 100g; n=7) e nos ratos 2R1C ativos ($0,006 \pm 0,003$ g/ 100g; n=10) (Figura 18).

A análise histológica das estruturas cardíacas (Figura 19) nos permite observar uma redução na degeneração dos cardiomiócitos nos ratos Sham ativos (0%; n=3) quando comparados com os animais Sham sedentários (11%; n=3). Não foi observada alteração da inflamação ventricular focal no grupo Sham ativo e sedentário. Foi observado um espessamento excêntrico da parede ventricular (33%; n=3), aumentando a luz do órgão, no grupo Sham ativo em relação aos sedentários. Já no grupo hipertenso, a análise histológica nos permitiu observar que no grupo 2R1C ativo foi observada uma redução no espessamento da parede ventricular (22%; n=3) e vascular (22%; n=3) em comparação aos ratos 2R1C sedentários (33%, n=3; espessamento da parede ventricular e 33%, n=3; vascular) que apresentaram espessamento concêntrico da parede ventricular. Também no grupo hipertenso ativo foi observada uma redução na fibrose (0%; n=3) e um aumento na degeneração (55%; n=3) e inflamação ventricular focal (22%; n=3) em comparação aos animais 2R1C sedentários (22%, n=3; fibrose, 22%, n=3; degeneração e 11%; n=3, inflamação ventricular focal). As Figuras 20, 21 e 22 ilustram cortes histológicos das estruturas cardíacas nos ratos Sham e 2R1C, sedentários e ativos.

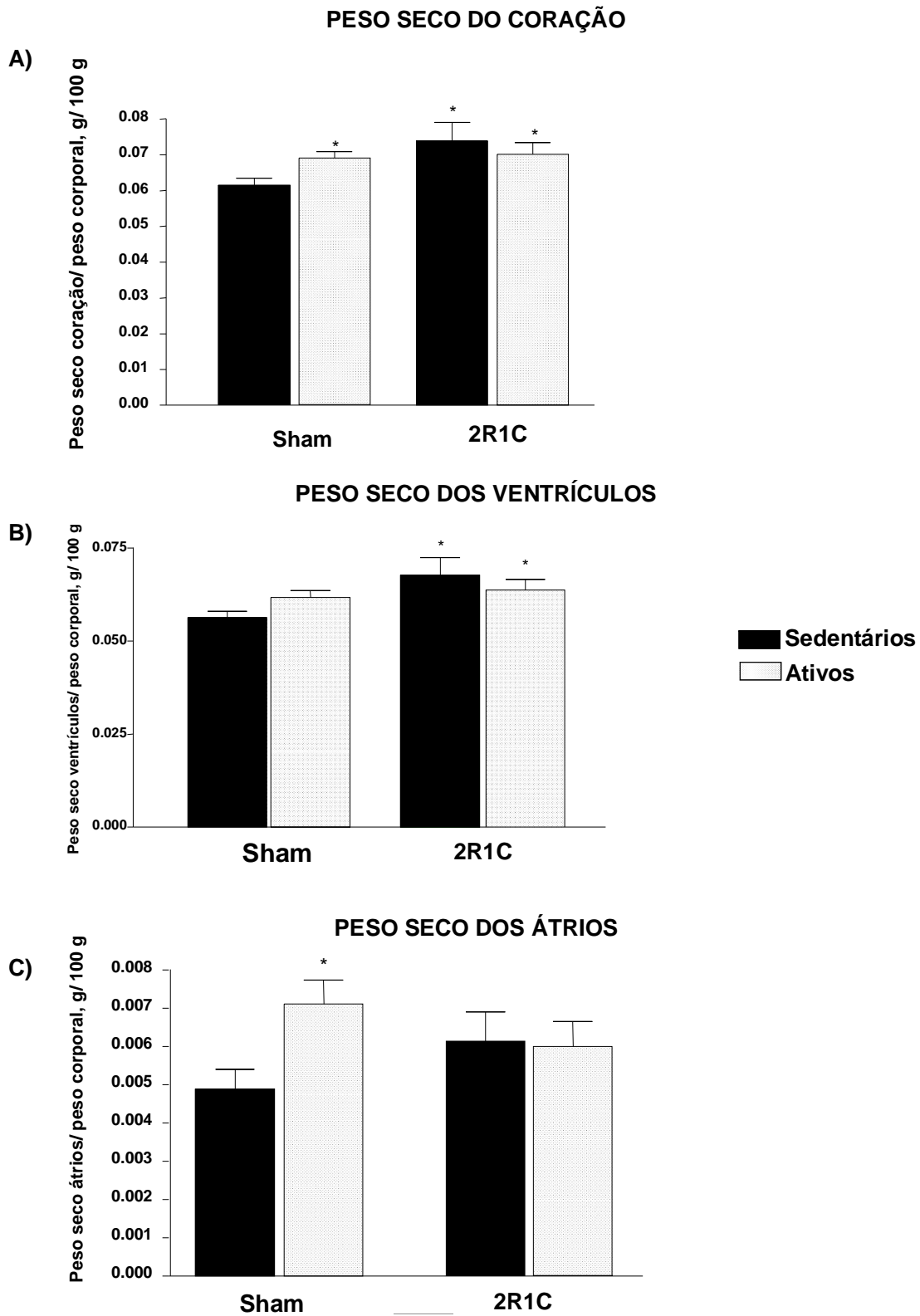


Figura 18 - Alterações no peso seco do coração, ventrículos e átrios (g/ 100g de peso corporal) de ratos Sham e 2R1C, sedentários e ativos. * $p < 0,05$ em comparação aos ratos sham (teste “t” de Student para observações não pareadas).

Tabela VI: Valores do peso dos corações, ventrículos e dos átrios (g/ 100g do peso corporal)

	SHAM Sedentário (n=9)	SHAM Ativo (n=9)	2R1C Sedentário (n=7)	2R1C Ativo (n=10)
Peso seco do coração	0,06 ± 0,002	0,07 ± 0,002*	0,07 ± 0,05*	0,07 ± 0,001*
Peso seco dos ventrículos	0,06 ± 0,002	0,06 ± 0,002	0,068±0,005*	0,063 ±0,003*
Peso seco dos átrios	0,004 ± 0,005	0,007 ±0,001*	0,006 ±0,001	0,006 ± 0,006

Valores expressos em média ± erro padrão da média. *p<0,05 em comparação aos rins não clipados. #p<0,05 em comparação aos ratos SHAM (teste “t” de Student para observações não pareadas).

AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA DO CORAÇÃO

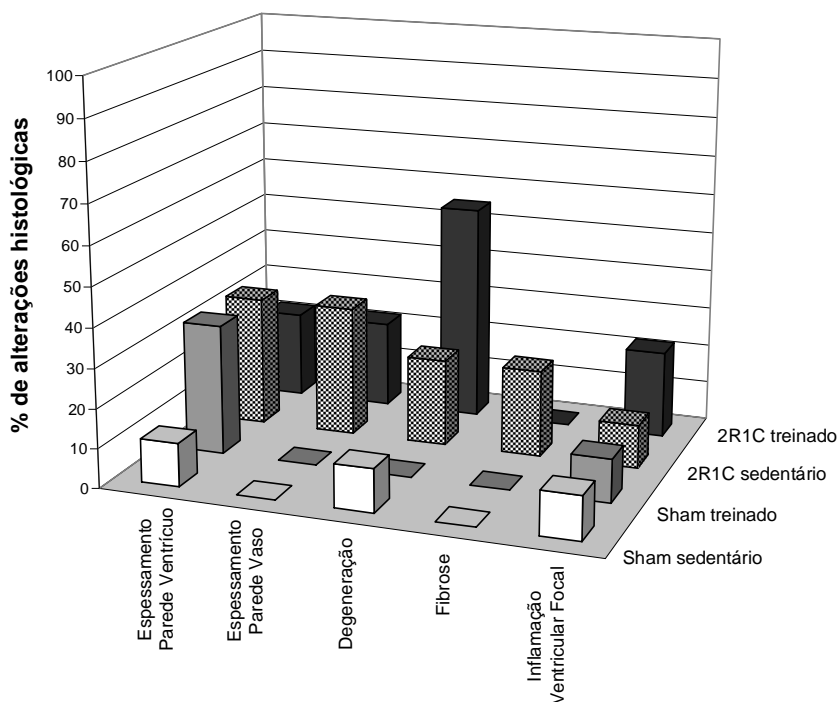


Figura 19 - Avaliação histológica do coração de ratos Sham sedentários (n=3) ou ativos (n=3) ou 2R1C sedentários (n=3) ou ativos (n=3).

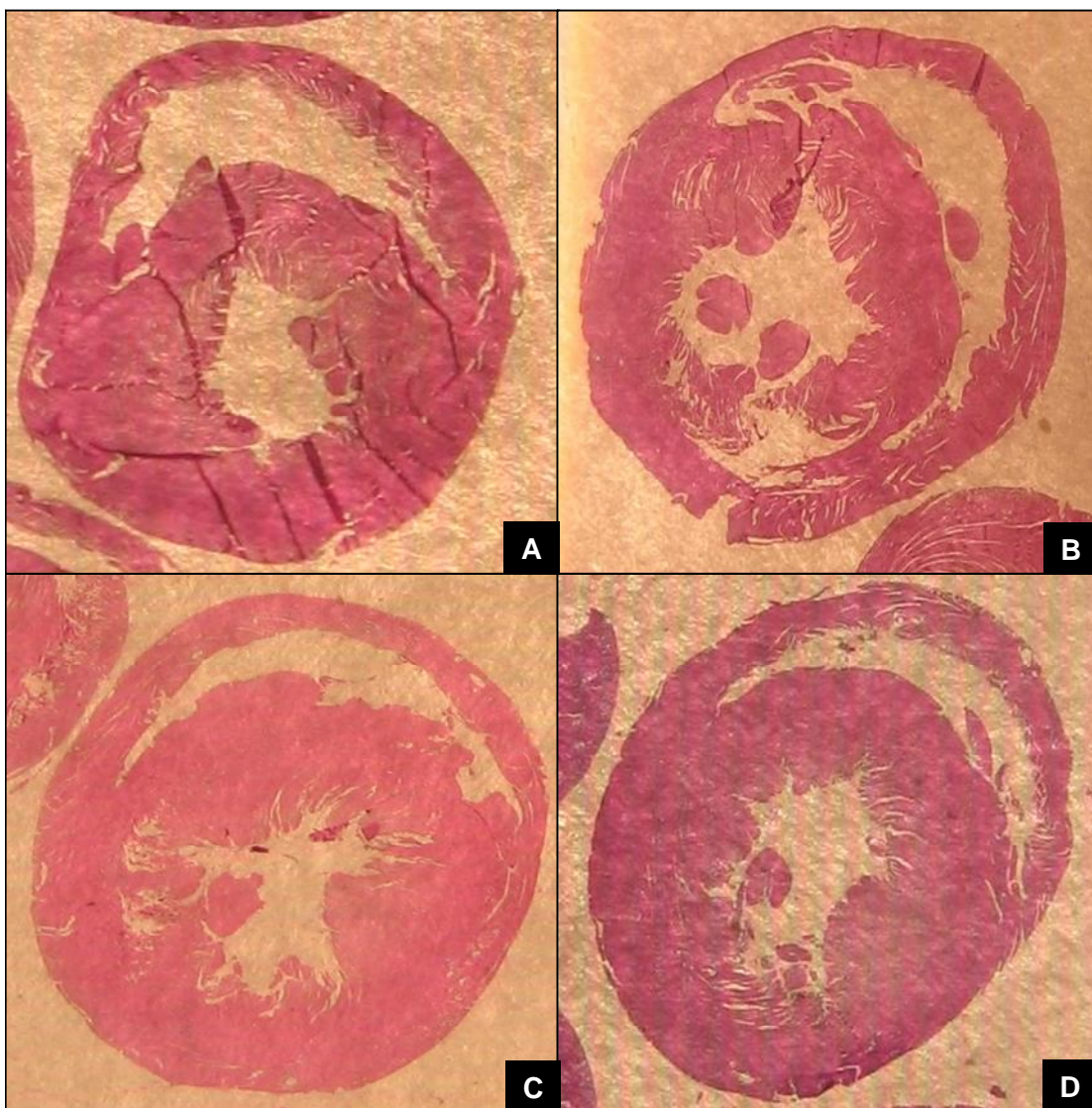


Figura 20 - Fotografias do coração de ratos pertencentes aos grupos Sham e 2R1C, sedentários e ativos. Observa-se aspecto histológico compatível com quadro de normalidade nos grupos Sham representados pela figura A. Nos animais do grupo ativo, Sham (B) e 2R1C (D), observa-se hipertrofia cardíaca excêntrica (aumento na luz do órgão), enquanto no grupo 2R1C sedentário (C), observa-se hipertrofia concêntrica (redução na luz do órgão). Hematoxilina Eosina.

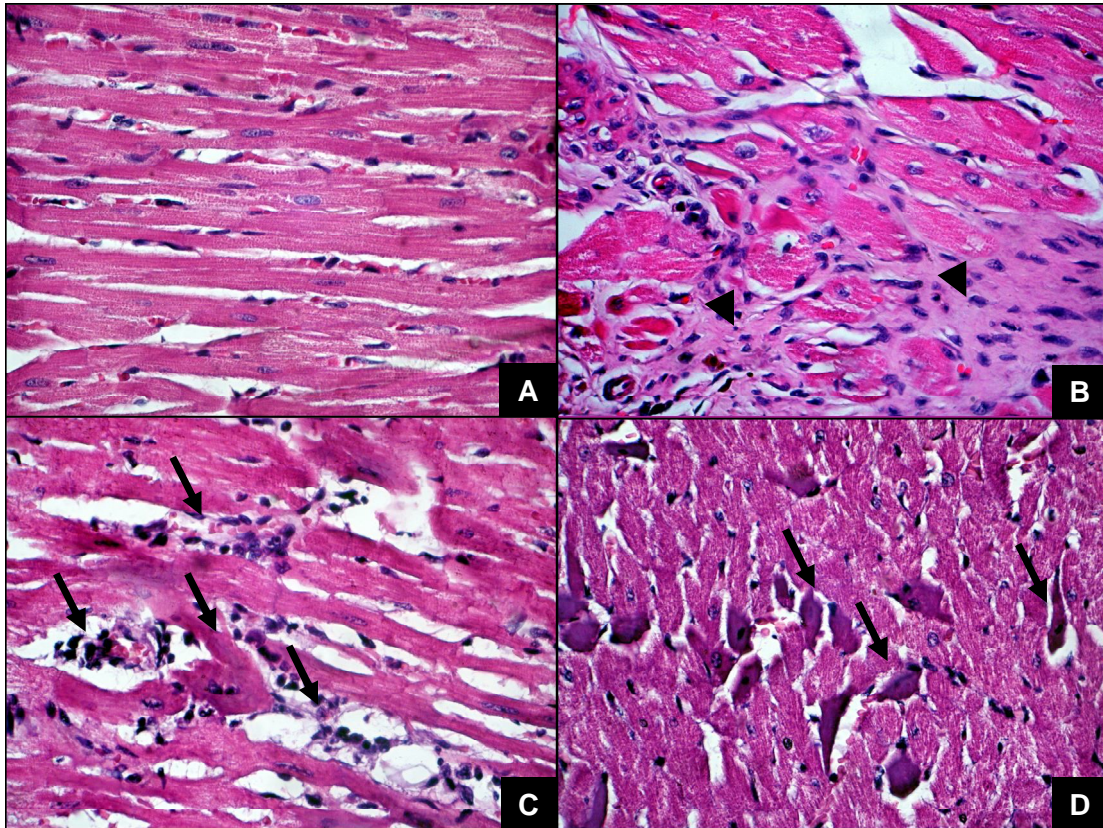


Figura 21 - Fotomicrografias do miocárdio de ratos pertencentes aos grupos Sham e 2R1C, sedentários e ativos. Observa-se aspecto histológico compatível com quadro de normalidade nos grupos Sham representados pela figura A. No miocárdio dos animais do grupo 2R1C (B) observa-se fibrose (cabeças de seta) enquanto no grupo 2R1C ativo, a presença de foco inflamatório ativo (C - setas) e degeneração acentuada (D - setas). Hematoxilina Eosina, X 600.

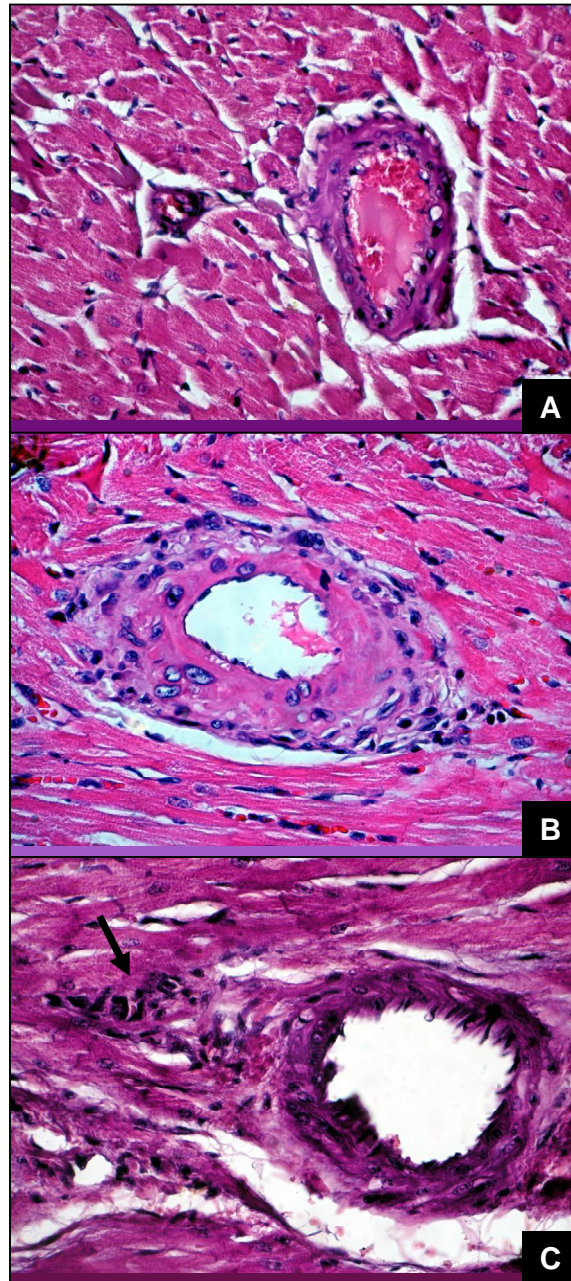


Figura 22 - Fotomicrografias do miocárdio de ratos pertencentes aos grupos Sham e 2R1C, sedentários e ativos. Observa-se aspecto histológico compatível com quadro de normalidade nos grupos Sham representados na figura A. No miocárdio dos animais do grupo 2R1C (B) observa-se espessamento da parede de vaso enquanto no ativo a presença de foco inflamatório perivascular (seta) e espessura semelhante ao normal (C). Hematoxilina Eosina, X 600.

4.6. Avaliação dos Níveis Séricos de Creatinina e Uréia

A Tabela VII mostra os níveis séricos de uréia e creatinina de ratos normotensos e hipertensos, sedentário e ativos.

Os níveis séricos de creatinina nos animais Sham sedentários ($124,15 \pm 15,18$, $n=10$) e Sham ativos ($133,47 \pm 21,37$, $n=10$) foram similares ao observado nos animais 2R1C sedentários ($132,99 \pm 20,41$, $n=10$) e 2R1C ativos ($126,24 \pm 21,97$, $n=10$).

Já em relação à dosagem sérica de uréia houve interação entre os animais 2R1C sedentários ($6,75 \pm 0,81$, $n=10$) e Sham sedentários ($7,2 \pm 0,81$, $n=10$) e o efeito da cirurgia 2R1C ou fictícia (Sham) e o efeito do treinamento físico nos 2R1C ativos ($8,51 \pm 0,71$, $n=10$) e Sham ativos ($7,41 \pm 1,09$, $n=10$). Estas diferenças foram significativas tanto devido ao treinamento quanto devido à hipertensão renovascular, porém nossos dados são insuficientes para sugerir alguma alteração com relação ao metabolismo protéico ou com relação à filtração glomerular.

Tabela VII - Concentração sérica de creatinina ($\mu\text{mol/L}$) e uréia (mmol/L)

Grupos	Creatinina ($\mu\text{mol/L}$)	Uréia (mmol/L)
SHAM Sedentário ($n=10$)	$124,15 \pm 15,18$	$7,2 \pm 0,81_a$
SHAM Ativo ($n=10$)	$133,47 \pm 21,37$	$7,41 \pm 1,09_{a, b}$
2R1C Sedentário ($n=10$)	$132,99 \pm 20,41$	$6,75 \pm 0,81_a$
2R1C Ativo ($n=10$)	$126,24 \pm 21,97$	$8,51 \pm 0,71_b$
Valor de P		
Treinamento	NS	<0,05
Hipertensão	NS	<0,05
Interação	NS	<0,05

O resultado indicado é a média \pm desvio padrão. Duas 2 Letras diferentes indicam diferenças significativas na mesma coluna ($p \leq 0,05$). Two-way ANOVA seguido de pós teste de Tukey.

4.7 AVALIAÇÃO DIRETA DOS PARÂMETROS CARDIOVASCULARES

4.7.1. Níveis de Basais de PAM e FC

Com a intenção de verificarmos a correlação entre a medida indireta (Pletismografia de cauda) que submete o animal a estresse como o manuseio, constrição e calor e a medida direta da PAM (Powerlab) e se poderia haver algum efeito do anestésico uretana utilizado para os estudos cardiovasculares, avaliou-se a pressão arterial na quarta semana após a cirurgia (2R1C e Sham) medida de forma indireta por pletismografia de cauda (na ausência da anestesia), e a pressão arterial no início do experimento, assim que o animal foi conectado ao transdutor (em torno de 20 minutos após a anestesia) e ao término do experimento (em torno de duas horas após a anestesia). Nossos dados mostram que nos animais do grupo Sham, sedentários e ativos, não houve alteração nos valores de PAM no início do experimento (105 ± 3 mmHg, $n=15$; Sham sedentários e 106 ± 3 mmHg, $n=13$; Sham ativos) e ao término do experimento (97 ± 5 mmHg, $n=12$; Sham sedentários e 96 ± 9 mmHg, $n=13$; Sham ativos) quando comparados com os valores de PAM obtidos de forma indireta pela pletismografia (103 ± 3 mmHg, $n=12$; Sham sedentários e 102 ± 1 mmHg, $n=13$; Sham ativos). Já nos animais do grupo 2R1C não houve alteração nos valores de PAM no início do experimento (152 ± 8 mmHg, $n=14$; 2R1C sedentários e 119 ± 4 mmHg, $n=20$; 2R1C Ativos) quando comparados com os valores de PAM obtidos de forma indireta pela pletismografia (153 ± 6 mmHg, $n=11$; 2R1C sedentários e 129 ± 4 mmHg, $n=17$; 2R1C ativos). Porém, neste mesmo grupo de animais hipertensos houve significativa alteração nos valores de PAM no final do experimento (114 ± 11 mmHg, $n=12$; 2R1C sedentários e 87 ± 8 mmHg, $n=17$; 2R1C ativos) quando comparados com os valores de PAM obtidos de forma indireta pela pletismografia (Figura 23 e Tabela VIII).

A Figura 24 ilustra o registro típico de PAM, pressão arterial pulsátil (PAP) e FC de um rato normotenso (Sham) e hipertenso (2R1C). A PAM basal dos ratos 2R1C sedentários ($161 \pm 13,5$ mmHg; $n=5$; $p < 0,05$) foi maior que a PAM basal dos ratos Sham sedentários ($105 \pm 4,3$ mmHg; $n=6$). O exercício físico reduziu a PAM no grupo 2R1C ativo (127 ± 6 mmHg; $n=7$) sendo que estes valores foram significativamente diferentes da PAM basal dos ratos 2R1C sedentários e Sham (sedentários e ativos). A PAM dos ratos 2R1C ativos foi maior que a PAM basal dos ratos Sham ativos (105 ± 4 mmHg; $n=7$; $p < 0,05$) (Figura 25).

Os valores basais de FC não foram diferentes no grupo Sham ativo ($373 \pm 9,8$ bpm; $n=7$) em comparação aos ratos Sham sedentários (400 ± 13 bpm; $n=6$). Contudo, no grupo

2R1C ativo a FC basal (375 ± 8 bpm; $n=7$) foi significativamente menor que a FC basal no grupo 2R1C sedentário (407 ± 12 bpm; $n=5$) (Figura 25). Nossos dados sugerem que o exercício foi eficiente em promover uma redução nos níveis basais de PA e FC nos animais 2R1C ativos.

AVALIAÇÃO DA PAM ANTES E APÓS ANESTESIA

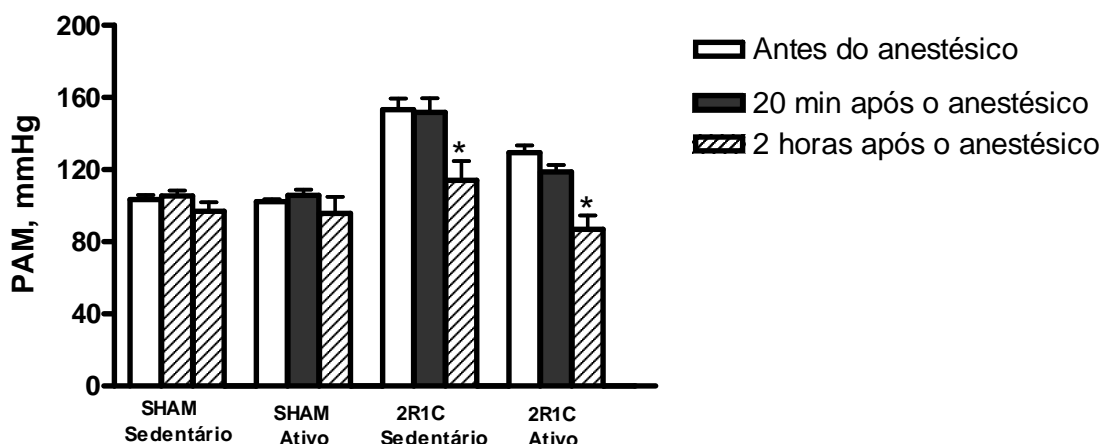


Figura 23 - Valores de pressão arterial, na quarta semana após a cirurgia (sham sedentários, $n=12-15$; sham ativos, $n=13$; 2R1C sedentários, $n=11-14$ e 2R1C ativos, $n=17-20$) medida de forma indireta pela pletismografia, no início do experimento (em torno de 20 minutos após a anestesia) e ao término do experimento (em torno de duas horas após a anestesia). * $p < 0,05$ comparado com a PAM antes da anestesia (medida pela pletismografia) (teste "t" de Student para observações não pareadas).

Tabela VIII: Valores da pressão arterial (PA, mmHg) em ratos acordados (pletismografia) e após anestesia - 20 minutos e duas horas

	SHAM Sedentário	SHAM Ativo	2R1C Sedentário	2R1C Ativo
Ratos acordados (pletismografia)	103 ± 3 ($n=12$)	102 ± 1 ($n=13$)	$153 \pm 6^*$ ($n=11$)	$129 \pm 4^*$ ($n=17$)
Ratos anestesiados (20 minutos)	105 ± 3 ($n=15$)	106 ± 3 ($n=13$)	$152 \pm 8^*$ ($n=14$)	119 ± 4 ($n=20$)
Ratos anestesiados (2 horas)	97 ± 5 ($n=12$)	96 ± 9 ($n=13$)	$114 \pm 11^*$ ($n=12$)	$87 \pm 8^*$ ($n=17$)

Valores expressos em média \pm erro padrão da média. * $p < 0,05$ comparado com a PAM antes da anestesia (medida pela pletismografia) (teste "t" de Student para observações não pareadas).

REGISTROS TÍPICOS DE PAP, PAM E FC BASAL

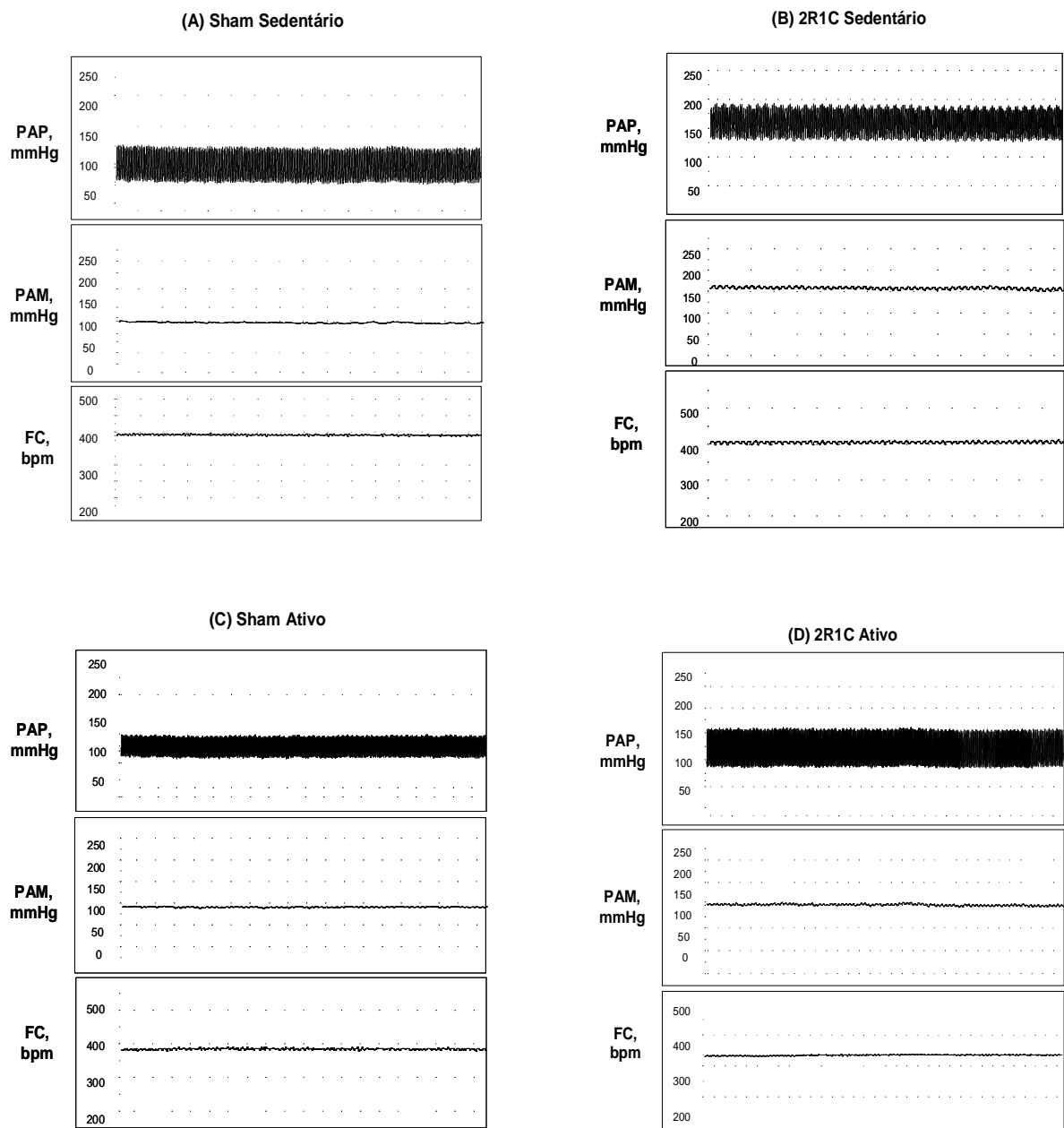


Figura 24 - Registros de pressão arterial pulsátil (PAP, mmHg), pressão arterial média (PAM, mmHg) e frequência cardíaca (FC, bpm) basal de ratos anestesiados com uretana.

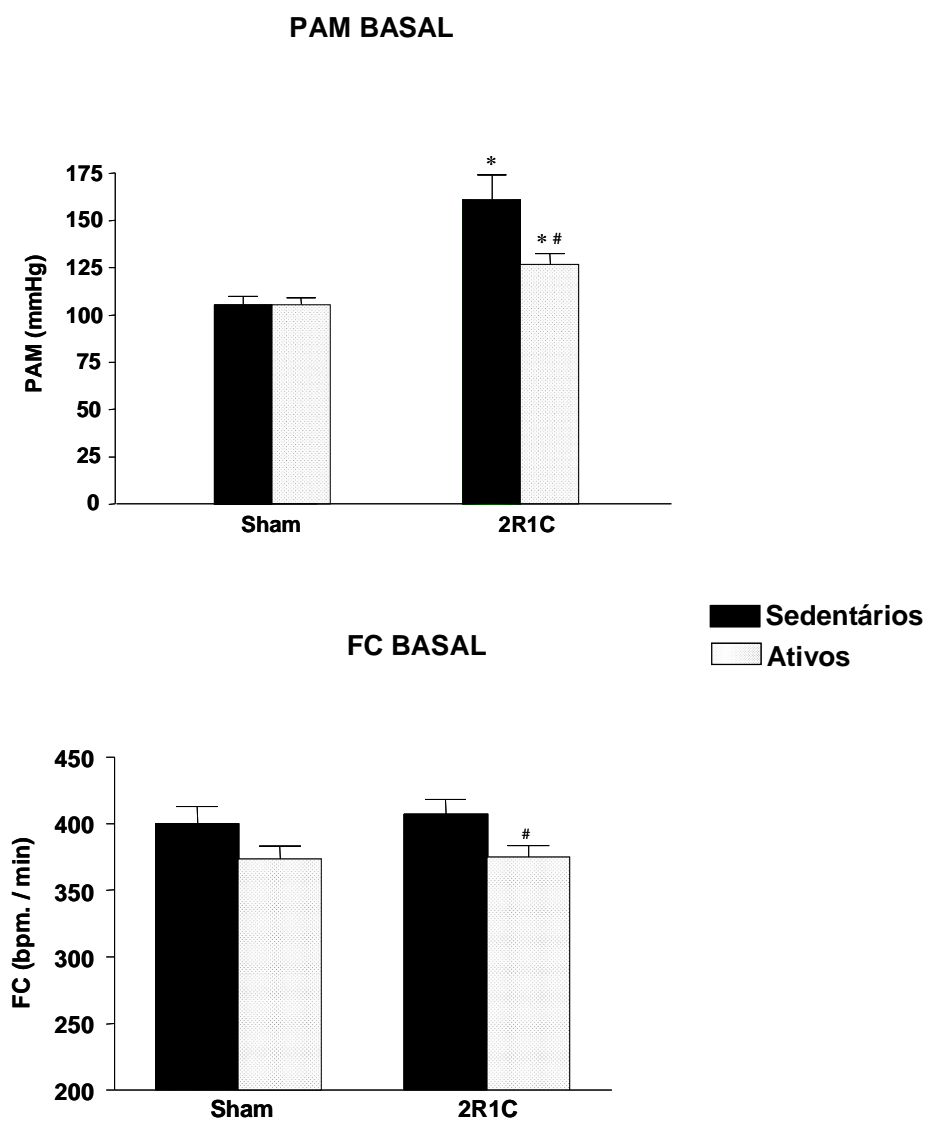


Figura 25 - Pressão arterial média basal (PAM, mmHg) e frequência cardíaca (batimentos/min) de ratos Sham sedentários ou ativos e 2R1C sedentários ou ativos. * $p < 0,05$ em comparação com ratos do grupo Sham (teste “t” de Student para observações não pareadas). (ANOVA seguido de Bonferroni ou Dunnet quando apropriado). # $p < 0,05$ em comparação aos ratos do grupo 2R1C (teste “t” de Student para observações não pareadas).

4.8 Administração Intravenosa de Ang II e PD123319

Na intenção de verificarmos se a atividade física poderia alterar o efeito provocado pela injeção intravenosa Ang II e PD 123319, nós avaliamos as alterações nos valores basais de PAM e FC produzidas por injeções intravenosas de Ang II (240 μ M), PD123319 (570 μ M) e salina (0,05 ml; NaCl 0,9%) em ratos Sham e 2R1C, sedentários e ativos.

No grupo Sham sedentário, como mostrado na Figura 26 e na Tabela IX, a injeção intravenosa de Ang II (43 ± 5 mmHg, n=5; p<0,05) produziu efeito hipertensor superior à injeção de salina (16 ± 5 mmHg, n=5). A injeção intravenosa de PD 123319 (5 ± 3 mmHg, n=5) produziu efeito na PAM similar ao da salina e não foi capaz de abolir o efeito hipertensor da Ang II (56 ± 10 mmHg, n=5; p<0,05).

No grupo Sham ativo o efeito hipertensor produzido pela injeção intravenosa de Ang II (44 ± 9 mmHg, n=6; p<0,05) foi superior à injeção de salina (12 ± 4 mmHg, n=6). A injeção intravenosa de PD123319 (6 ± 2 mmHg, n=6) produziu efeito similar ao da salina, porém inibiu o efeito hipertensor induzido pela injeção de Ang II (26 ± 9 mmHg, n=6; em comparação a 44 ± 9 mmHg, n=6; Ang II antes do PD) (Figura 26 e Tabela IX).

De modo semelhante ao grupo Sham sedentário, no grupo 2R1C sedentário a injeção intravenosa de Ang II (59 ± 19 mmHg, n=6; p<0,05) produziu efeito hipertensor que foi superior à injeção de salina (12 ± 5 mmHg, n=6). A injeção intravenosa de PD 123319 (7 ± 5 mmHg, n=6) foi similar ao efeito da salina e não aboliu o efeito hipertensor produzido pela injeção de Ang II (50 ± 15 mmHg, n=6; p<0,05 em comparação a 59 ± 19 mmHg, n=6; p<0,05 Ang II antes do PD) (Figura 26 e Tabela IX).

No grupo 2R1C ativo a injeção intravenosa de Ang II (39 ± 14 mmHg, n=6; p<0,05) foi diferente da injeção de salina (5 ± 3 mmHg, n=6). A injeção intravenosa de PD 123319 ($0,5 \pm 3$ mmHg, n=6) produziu efeito similar ao da salina, porém da mesma forma que observado no grupo Sham ativo, o PD perifericamente, inibiu o efeito hipertensor induzido pela injeção de Ang II (18 ± 16 mmHg; n=6 em comparação a 39 ± 14 mmHg, n=6; Ang II antes do PD) (Figura 26 e Tabela IX).

Não foram observadas alterações significativas na FC dos animais após a injeção intravenosa de Ang II e PD123319 (Tabela X).

ADMINISTRAÇÃO INTRAVENOSA DE ANG II, PD123319 E SALINA

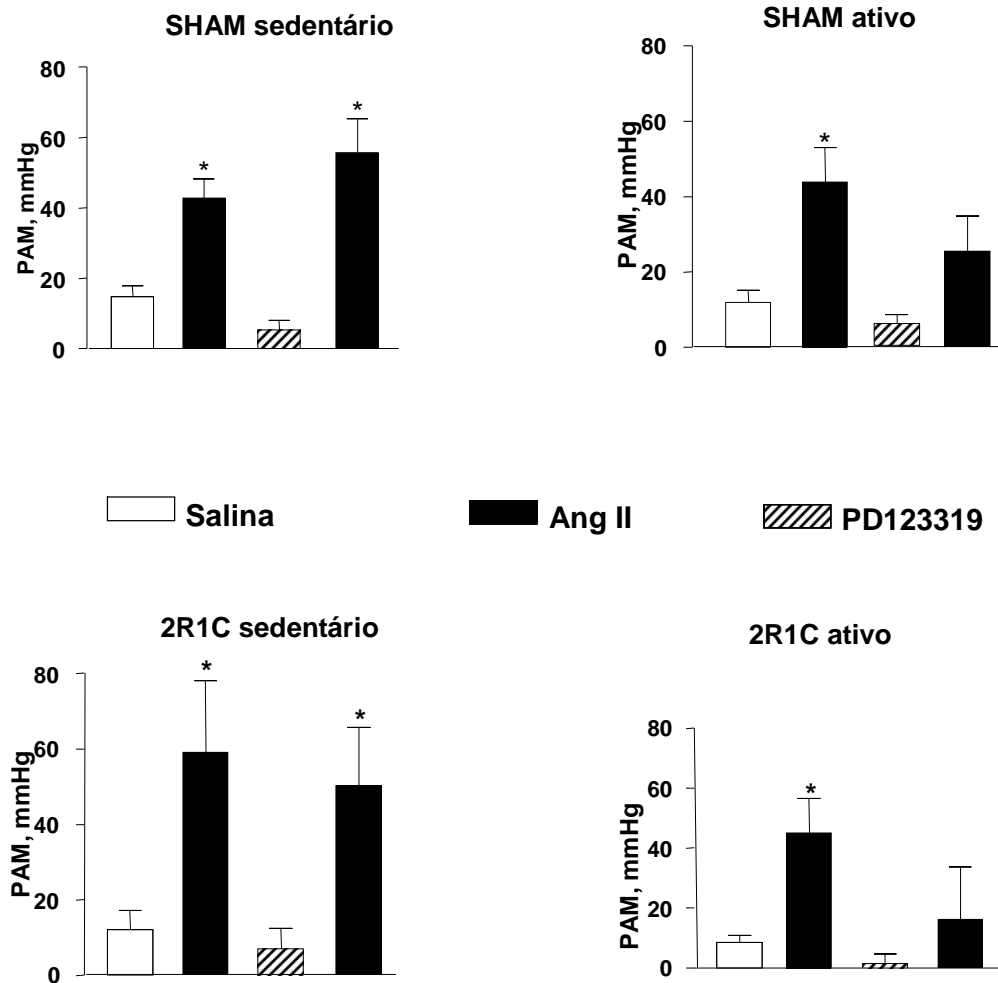


Figura 26 - Alterações na pressão arterial média (PAM, mmHg) produzidas por injeções intravenosas de Ang II (13 µg), PD123319 (21 µg) e salina (0,05 ml; NaCl 0,9%) em ratos Sham sedentários (n=5) e ativos (n=6) e ratos 2R1C sedentários (n=6) e ativos (n=6). *p<0,05 em comparação a injeções de salina (teste “t” de Student para observações não pareadas).

Tabela IX: Valores basais de Pressão Arterial Média em ratos Sham e 2R1C, sedentários e ativos.

	SHAM Sedentário n=5	SHAM Ativo n=6	2R1C Sedentário n=6	2R1C Ativo n=6
Salina	103 ± 6	103 ± 2	129 ± 9	90 ± 5
Ang II	113 ± 6	97 ± 7	116 ± 19	87 ± 17
Salina	117 ± 9	94 ± 7	127 ± 12	87 ± 11
PD	129 ± 10	100 ± 8	128 ± 11	86 ± 13
Salina	99 ± 5	88 ± 7	110 ± 18	72 ± 10
Ang II	101 ± 7	104 ± 11	114 ± 18	84 ± 17

Valores em média ± erro padrão da média. *p<0,05 em comparação com ratos do grupo Sham sedentário (teste “t” de Student para observações não pareadas).

Tabela X: Valores basais de Frequência Cardíaca em ratos Sham e 2R1C, sedentários e ativos.

	SHAM Sedentário n=5	SHAM Ativo n=6	2R1C Sedentário n=6	2R1C Ativo n=6
Salina	331 ± 38	380 ± 18	388 ± 19	314 ± 19
Ang II	293 ± 37	341 ± 25	300 ± 22	299 ± 14
Salina	292 ± 34	327 ± 9	298 ± 24	293 ± 6
PD	287 ± 30	315 ± 8	298 ± 25	285 ± 10
Salina	300 ± 38	341 ± 15	310 ± 26	299 ± 15
Ang II	301 ± 3	333 ± 13	307 ± 27	288 ± 23

Valores em média ± erro padrão da média. *p<0,05 em comparação com ratos do grupo sham sedentário (teste “t” de Student para observações não pareadas).

4.6.2. Avaliação da Bradicardia Reflexa

Como esperado e mostrado na Figura 27 e Tabela XI a bradicardia barorreflexa nos ratos 2R1C sedentários ($0,09 \pm 0,03$ ms/mmHg; n=5; $p < 0,05$) foi menor em comparação aos ratos Sham sedentários ($0,36 \pm 0,07$ ms/mmHg; n=6). Não houve diferença na bradicardia barorreflexa nos ratos ativos ou sedentários do grupo Sham. Ao contrário, no grupo 2R1C ativo houve um aumento na bradicardia barorreflexa ($0,2 \pm 0,03$ ms/mmHg; n=7; $p < 0,05$) em comparação aos ratos 2R1C sedentários ($0,09 \pm 0,03$ ms/mmHg; n=5). A sensibilidade barorreflexa no grupo 2R1C ativo não foi diferente da encontrada no grupo Sham ativo ($0,33 \pm 0,03$ ms/mmHg; n=7).

Os valores do índice de sensibilidade da bradicardia reflexa (ISBR) estão apresentados na Tabela XI. O índice de correlação linear foi de $r^2 = 0,9185$ para ratos 2R1C sedentários, $r^2 = 0,9516$ para ratos 2R1C Ativos, $r^2 = 0,9088$ para ratos Sham sedentários e $r^2 = 0,9791$ para ratos Sham ativos, como mostrado na Figura 28.

Tabela XI: Valores basais de PAM e FC, índice de correlação da regressão linear e sensibilidade da bradicardia reflexa.

	Valores Basais		Índice de Correlação da Regressão Linear (r^2)	Sensibilidade da Bradicardia Reflexa ($\Delta IP / \Delta PAM$, ms/mmHg)
	PAM (mmHg)	FC (bpm)		
SHAM Sedentário (n=6)	$105 \pm 4,3$	400 ± 13	0,9088	$0,36 \pm 0,07$
SHAM Ativo (n=7)	105 ± 4	$373 \pm 9,8$	0,9791	$0,33 \pm 0,03$
2R1C Sedentário (n=5)	$161 \pm 13,5^*$	407 ± 12	0,9185	$0,09 \pm 0,03^{*\dagger}$
2R1C Ativo (n=7)	$127 \pm 6^{*\#}$	$375 \pm 8^\#$	0,9516	$0,2 \pm 0,03^{*\#}$

Valores em média \pm erro padrão da média. * $p < 0,05$ em comparação com ratos do grupo sham sedentário (teste "t" de Student para observações não pareadas). (ANOVA seguido de Bonferroni ou Dunnet quando apropriado). † $p < 0,05$, em comparação ao grupo sham ativos (teste "t" de Student para observações não pareadas). (ANOVA seguido de Bonferroni ou Dunnet quando apropriado). # $p < 0,05$ em comparação aos ratos do grupo 2R1C sedentário (teste "t" de Student para observações não pareadas).

ÍNDICE DE SENSIBILIDADE DA BRADICARDIA BARORREFLEXA

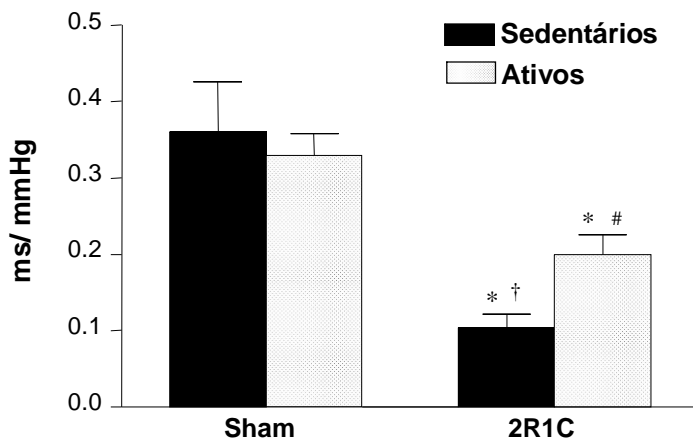


Figura 27 - Alterações no índice de sensibilidade da bradicardia barorreflexa ($\Delta IP / \Delta PAM$, ms / mmHg) induzida por aumentos na PAM produzidos pela fenilefrina (iv) em ratos Sham (sedentários ou ativos) e 2R1C (sedentários ou Ativos). * $p < 0,05$ em comparação com ratos do grupo sham sedentário (teste “t” de Student para observações não pareadas). (ANOVA seguido de Bonferroni ou Dunnet quando apropriado). † $p < 0,05$ em comparação ao grupo Sham ativo (teste “t” de Student para observações não pareadas). (ANOVA seguido de Bonferroni ou Dunnet quando apropriado). # $p < 0,05$ em comparação aos ratos do grupo 2R1C sedentário (teste “t” de Student para observações não pareadas).

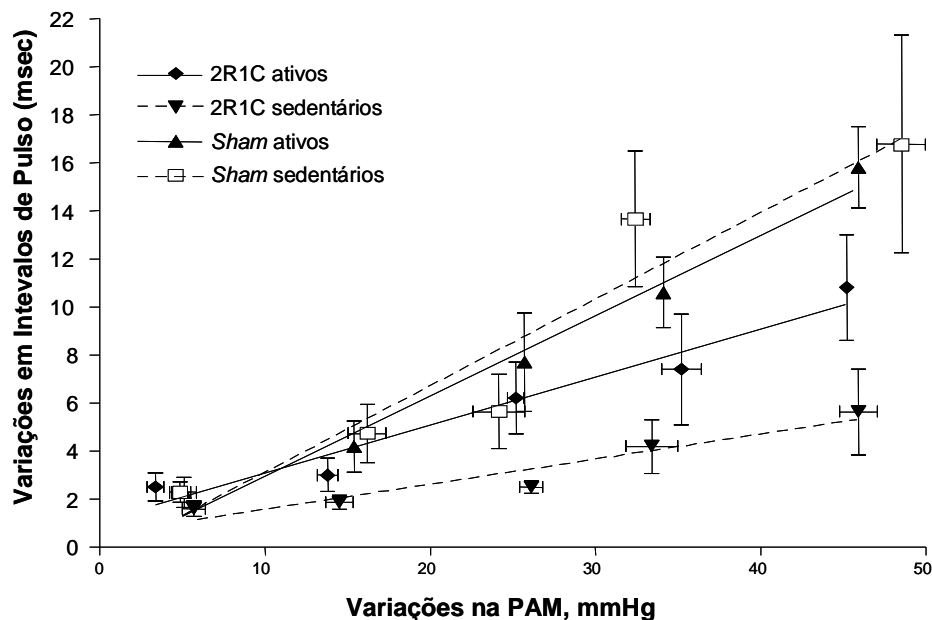


Figura 28 - Alterações reflexas na FC (expressas em IP, ms) em resposta a variações na PAM produzidas por doses crescentes de fenilefrina (0,25 a 5 μ g, iv) nos grupos Sham e 2R1C sedentários (n=5-6) e ativos (n=7-7). As linhas representam a reta de melhor ajuste obtida por regressão linear.

4.9. Efeitos Cardiovasculares Produzidos por Microinjeções de Ang II e PD123319 na CVLM

Na intenção de verificarmos se alterações induzidas pela atividade física poderiam estar relacionadas à reatividade da CVLM para Ang II, nós avaliamos a microinjeção de Ang II em ratos normotensos (Sham) e com hipertensão renovascular (2R1C) submetidos à atividade física de baixa intensidade.

A Figura 29 apresenta registros típicos das alterações de PAP, PAM e FC produzidas pelas microinjeções de Ang II, PD123319 e Salina, na CVLM de ratos 2R1C e Sham, sedentários e ativos.

A AngII microinjetada na CVLM produziu significativas diminuições na PAM nos grupos 2R1C ($-12 \pm 0,97$ mmHg; n=5, nos ratos sedentários e $-13 \pm 3,5$ mmHg; n=7 nos ratos ativos) similares às observadas no grupo Sham ($-13 \pm 1,3$ mmHg; n=6 no ratos sedentários e $-13 \pm 1,95$ mmHg; n=7 nos ratos ativos) (Figura 30 e Tabela XII).

Todos estes efeitos hipotensivos foram significativamente diferentes daqueles produzidos por microinjeções de salina (Tabela XII). A microinjeção de Ang II não provocou alterações significativas na FC dos animais (Figura 30 e Tabela XIII).

O antagonista de receptores AT₂ para Ang II, PD 123319, microinjetado na CVLM produziu efeito hipotensor nos ratos 2R1C sedentários ($-9,7 \pm 0,89$ mmHg, n=5; p<0,05) diferentes em comparação a microinjeções de salina ($-5 \pm 1,3$ mmHg, n=5). De forma diferente, em ratos 2R1C ativos o efeito depressor do PD123319 na CVLM ($-6,4 \pm 1,7$ mmHg, n=7) foi similar ao observado após microinjeção de salina ($-4,6 \pm 1,2$ mmHg, n=7) (Figura 30 e Tabela XII).

No grupo Sham o efeito hipotensor produzido pelo PD123319 na CVLM não foi diferente em relação ao efeito produzido pela salina tanto nos animais Sham sedentários ($-6 \pm 1,8$ mmHg em comparação à $-6 \pm 1,7$ mmHg, n=6, no grupo salina) quanto nos animais Sham ativos ($-6 \pm 0,86$ mmHg em comparação à $-5,5 \pm 0,97$ mmHg, n=6, no grupo salina) (Figura 30 e Tabela XII).

REGISTROS TÍPICOS DE PAP, PAM E FC DOS EFEITOS PRODUZIDOS PELAS MICROINJEÇÕES DE SALINA, ANG II E PD123319 NA CVLM

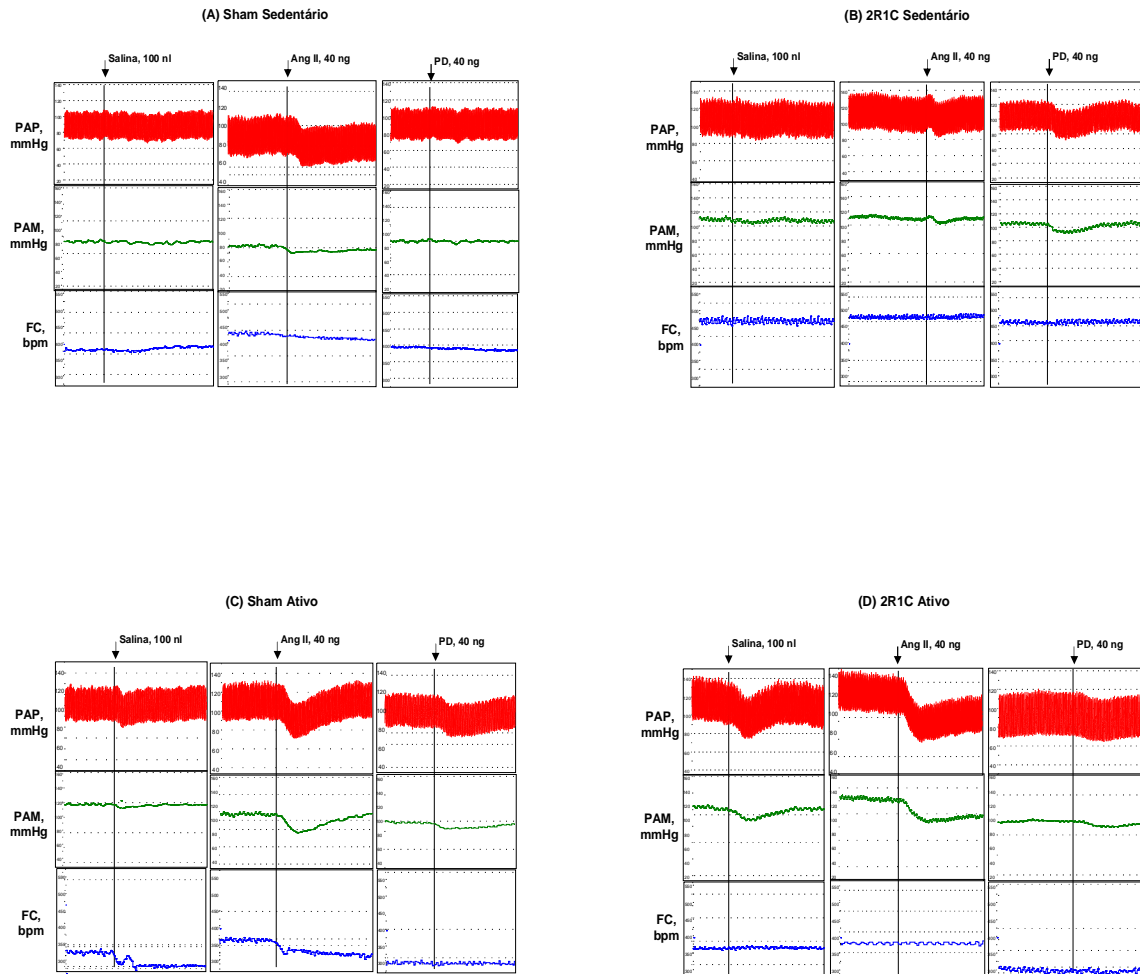


Figura 29 - Registros de pressão arterial pulsátil (PAP, mmHg), pressão arterial média (PAM, mmHg) e frequência cardíaca (FC, bpm) ilustrando o efeito da microinjeção de salina, Ang II e PD 123319, na CVLM de ratos anestesiados com uretana. A linha vertical indica o momento da microinjeção.

**EFEITOS CARDIOVASCULARES PRODUZIDOS PELA MICROINJEÇÃO DO
ANTAGONISTA DE RECEPTOR AT₂ NA CVLM**

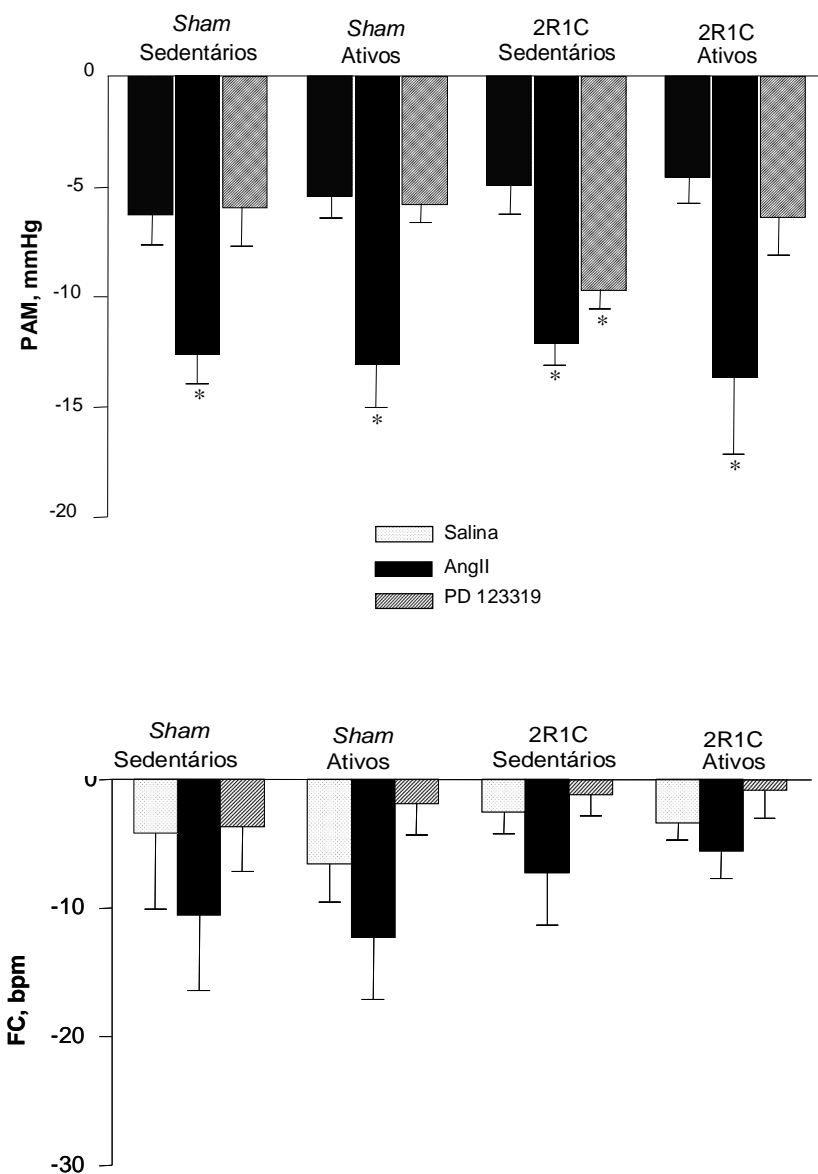


Figura 30 - Alterações da pressão arterial média (MAP, mmHg) e frequência cardíaca (FC, batimentos por min., bpm) produzidas por microinjeções de salina (100 nL, n=5-7), Ang II (40 pmoles, n=5-7) ou PD123319 (40 pmoles, n=5-7) na CVLM em ratos Sham e 2R1C, sedentários e ativos. * p < 0.05, em comparação a salina (ANOVA seguido por Bonferroni ou Dunnett quando apropriado). Teste “t” de Student para observações não pareadas.

Tabela XII: Valores Basais de Pressão Arterial Média (PAM, mmHg) em ratos Sham e 2R1C, sedentários e ativos.

	Sham		2R1C	
	Sedentários (n=6)	Ativos (n=7)	Sedentários (n=5)	Ativos (n=7)
Início do Experimento (20 min após uretana)	105 ± 4	105 ± 3	161 ± 13	127 ± 6*
Salina (100 nl)	100 ± 5	94 ± 9	117 ± 11*	91 ± 7
Ang II (40 ng)	101 ± 5	91 ± 10	114 ± 12*	93 ± 6
PD12319 (40 ng)	103 ± 5	94 ± 9	105 ± 13*	93 ± 8

Valores expostos em média ± EPM. * p<0.05 em comparação aos ratos Sham sedentários. (Test "t" de Student não pareado).

Tabela XIII: Valores Basais de Frequência Cardíaca (FC, bpm) produzidas por microinjeções de salina, Ang II e PD123319 na CVLM em ratos Sham e 2R1C, sedentários e ativos.

	Sham		2R1C	
	Sedentários (n=6)	Ativos (n=7)	Sedentários (n=5)	Ativos (n=7)
Início do Experimento (20 min após uretana)	400 ± 13	373 ± 9	407 ± 12	375 ± 8*
Salina (100 nl)	293 ± 28	295 ± 14	366 ± 47*	292 ± 25
Ang II (40 ng)	327 ± 32	323 ± 15	369 ± 39*	288 ± 30
PD12319 (40 ng)	298 ± 31	285 ± 15	333 ± 45*	294 ± 23

Valores expostos em média ± EPM. * p<0.05 em comparação aos ratos Sham sedentários. (Test "t" de Student não pareado).

4.10. Efeito de Microinjeções de Ang II na CVLM após o Bloqueio do Receptor AT₂ pelo Antagonista PD123319.

Na intenção de verificarmos se a atividade física poderia alterar o tempo de inibição provocado pela microinjeção de PD123319 à resposta produzida pela Ang II na CVLM, nós avaliamos o efeito da Ang II microinjetada na CVLM 5, 15 e 30 minutos após a microinjeção de PD123319 na CVLM em ratos normotensos (Sham) e com hipertensão renovascular (2R1C) sedentários e submetidos à atividade física.

Como mostrado na Figura 31 e na Tabela XIV, a microinjeção de PD123319 na CVLM aboliu o efeito da Ang II durante 5 minutos nos grupos Sham sedentários (-2 ± 1 mmHg, n=6; em comparação -13 ± 1 mmHg, n=6; Ang II antes do PD) e ativos (-2 ± 1 mmHg, n=6; em comparação a -13 ± 2 mmHg, n=7; Ang II antes do PD) e também no grupo 2R1C sedentário ($-0,5 \pm 1$ mmHg, n=56; em comparação a -12 ± 1 mmHg, n=5; Ang II antes do PD) e ativo (-2 ± 2 mmHg, n=76; em comparação a -14 ± 3 mmHg, n=8; Ang II antes do PD) .

A microinjeção de PD123319 na CVLM aboliu o efeito da Ang II durante 15 minutos somente nos grupos Sham sedentários (-5 ± 1 mmHg, n=6; em comparação -13 ± 1 mmHg, n=6; Ang II antes do PD) e ativos (-2 ± 1 mmHg, n=7; em comparação a -13 ± 2 mmHg, n=7; Ang II antes do PD) e no grupo 2R1C ativo (-6 ± 2 mmHg, n=8; em comparação a -14 ± 3 mmHg, n=8; Ang II antes do PD). No entanto, no grupo 2R1C sedentário o PD123319 microinjetado na CVLM não aboliu o efeito da Ang II (-6 ± 3 mmHg, n=5; em comparação a -12 ± 1 mmHg, n=5; Ang II antes do PD) após 15 minutos da sua microinjeção (Figura 31 e na Tabela XIV).

A microinjeção de Ang II 30 minutos após o PD na CVLM não aboliu o efeito da Ang II nos grupos Sham sedentários (-9 ± 2 mmHg, n=6) e ativos (-10 ± 3 mmHg, n=7) e também no grupo 2R1C sedentário (-13 ± 2 mmHg, n=5) e ativo (-13 ± 4 mmHg, n=7) em relação à microinjeção de Ang II antes do PD123319 (Figura 31 e na Tabela XIV).

A microinjeção de Ang II não provocou alterações significativas na FC nestes animais (Figura 32 e Tabela XV).

EFEITO DA ANG II NA CVLM APÓS INIBIÇÃO POR PD123319

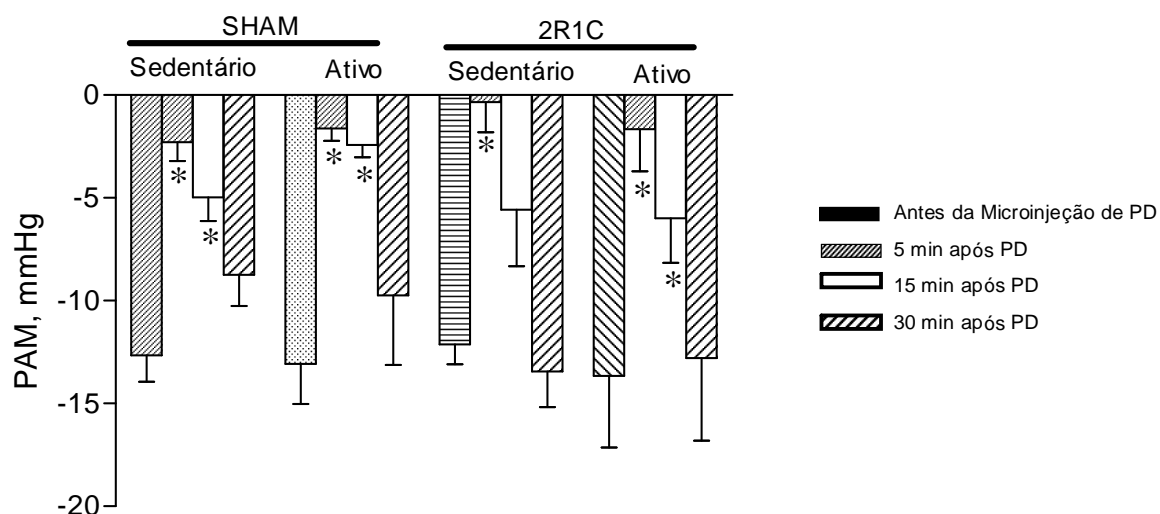


Figura 31 - Alterações na pressão arterial média (PAM, mmHg) produzidas por microinjeções na CVLM de Ang II (380 μ M, n=5-8) antes e 5, 15 e 30 min após microinjeções de PD123319 (678 μ M, n=5-8) na CVLM em ratos Sham e 2R1C sedentários (n=5-6) ou ativos (n=7-7). *p<0,05 em comparação a microinjeções de Ang II antes do PD na CVLM (teste “t” de Student para observações não pareadas). (ANOVA seguido de Bonferroni ou Dunnet quando apropriado).

Tabela XIV: Valores basais de Pressão Arterial Média (PAM, mmHg) em ratos Sham e 2R1C, sedentários e Ativos.

	SHAM Sedentário n=6	SHAM Ativo n=7	2R1C Sedentário n=5	2R1C Ativo n=8
Ang II antes PD	101 \pm 5	91 \pm 10	114 \pm 12	93 \pm 6
Ang II 5 min após PD	101 \pm 6	95 \pm 8	108 \pm 12	91 \pm 8
Ang II 15 min após PD	102 \pm 6	95 \pm 10	100 \pm 16	85 \pm 10
Ang II 30 min após PD	97 \pm 5	80 \pm 12	104 \pm 12	83 \pm 11

Valores em média \pm erro padrão da média. *p<0,05 em comparação a Ang II antes do PD (teste “t” de Student para observações não pareadas).

EFEITO DA ANG II NA CVLM APÓS INIBIÇÃO POR PD123319

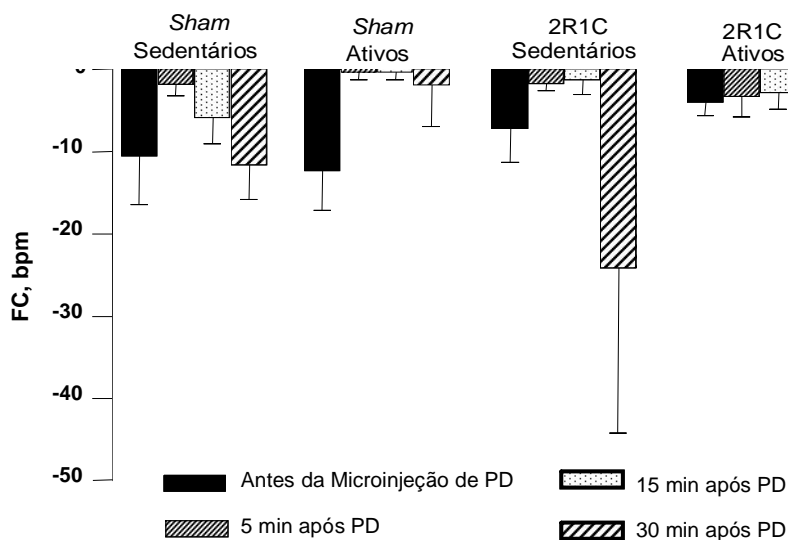


Figura 32 - Alterações na freqüência cardíaca (FC, bpm) produzidas por microinjeções na CVLM de Ang II (380 μ M, n=5-8) antes e 5, 15 e 30 min após microinjeções de PD123319 (678 μ M, n=5-8) na CVLM em ratos Sham e 2R1C sedentários (n=5-6) e ativos (n=7-7). *p<0,05 em comparação a microinjeções de Ang II antes do PD na CVLM (teste “t” de Student para observações não pareadas). (ANOVA seguido de Bonferroni ou Dunnet quando apropriado).

Tabela XV: Valores basais de Freqüência Cardíaca (FC, bpm) em ratos Sham e 2R1C, sedentários e ativos.

	SHAM Sedentário (n=6)	SHAM Ativo (n=7)	2R1C Sedentário (n=5)	2R1C Ativo (n=8)
Ang II antes PD 123319	327 \pm 33	323 \pm 15	369 \pm 39	303 \pm 24
Ang II 5 min após PD123319	317 \pm 32	284 \pm 17	325 \pm 40	291 \pm 22
Ang II 15 min após PD123319	324 \pm 32	291 \pm 18	321 \pm 41	288 \pm 30
Ang II 30 min após PD123319	325 \pm 32	299 \pm 13	333 \pm 40	294 \pm 23

Valores em média \pm erro padrão da média. *p<0,05 em comparação a microinjeções de Ang II antes do PD na CVLM (teste “t” de Student para observações não pareadas).

4.11. Avaliação histológica da CVLM

A Figura 33 apresenta uma fotografia e um esquema da superfície ventral do bulbo (painel A) ilustrando o posicionamento típico (ântero-posterior e latero-lateral) das microinjeções na CVLM. O painel B mostra uma fotografia de um corte histológico típico da CVLM ilustrando a localização do centro das microinjeções na CVLM e a lesão provocada pela micropipeta de vidro e um diagrama de corte frontal do bulbo do atlas de PAXINOS e WATSON, 1986.

A análise dos cortes histológicos dos animais desse estudo mostra que as microinjeções de Ang II, salina e PD123319 estavam confinadas à porção ventral dos núcleos reticular lateral, a uma distância de 0,7 mm rostral e 1,8 mm lateral ao óbex, respectivamente os esquemas 71 a 73 do Atlas de Paxinos e Watison, 1986.

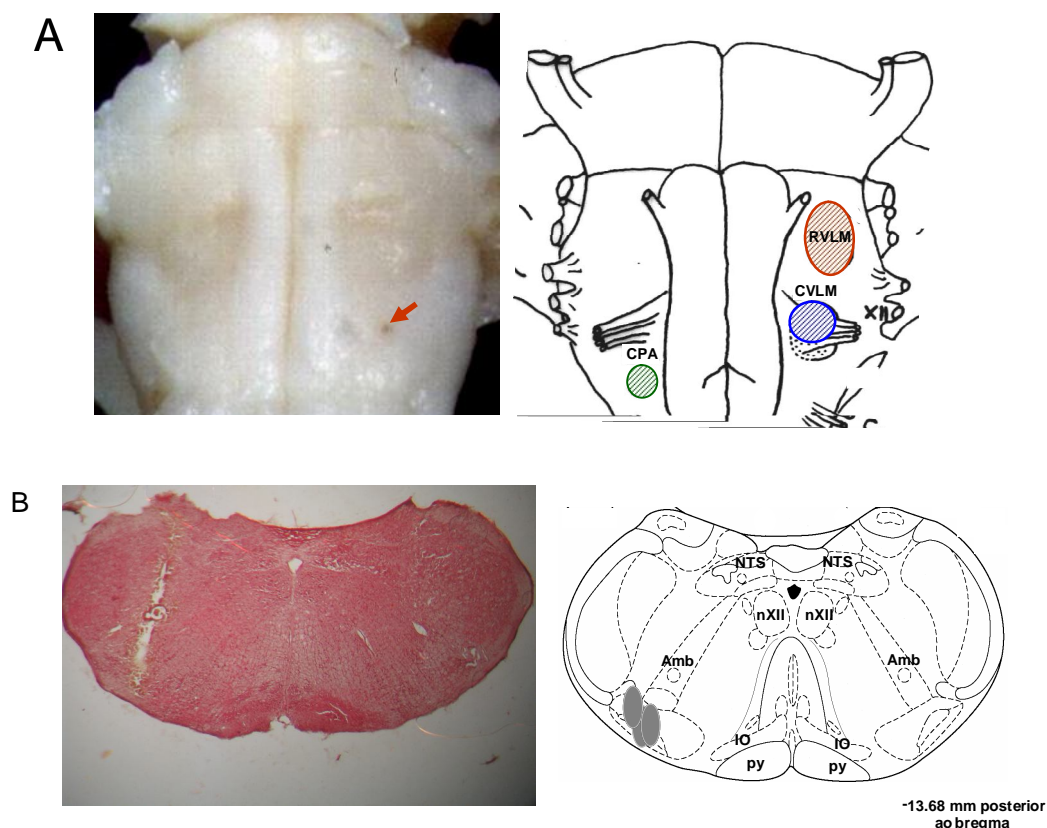


Figura 33 - Painel A- Fotografia da superfície ventral do bulbo ilustrando o posicionamento típico (seta vermelha) das microinjeções na CVLM. À direita da foto, diagrama da superfície ventral do bulbo ilustrando a localização das diferentes áreas de controle cardiovascular. Painel B- Fotografia de um corte frontal do bulbo ilustrando o centro da microinjeção em um animal. À direita da foto, diagrama de corte frontal do bulbo extraído do Atlas de PAXINOS e WATSON (1986), mostrando a localização do centro de todas as microinjeções do presente estudo (círculos cinza). Amb= núcleo ambíguo; IO= núcleo olivar inferior; NTS= núcleo do trato solitário; nXII= núcleo do hipoglosso; Py= trato piramidal.

DISCUSSÃO

5. DISCUSSÃO

Os resultados obtidos no presente estudo, em síntese, mostram que o exercício físico de baixa intensidade provoca uma melhora significativa dos parâmetros cardiovasculares em ratos com hipertensão renovascular, acompanhada por uma alteração na responsividade dos receptores AT_2 nos neurônios da CVLM em ratos com hipertensão 2R1C. Além disso, os animais hipertensos, sedentários e ativos e Sham ativos apresentaram maior ingestão hídrica, hipertrofia cardíaca, níveis séricos elevados de uréia. Porém, os animais submetidos à atividade física de baixa intensidade apresentaram adaptações desses parâmetros em decorrência da atividade física.

Alguns aspectos metodológicos devem ser considerados na interpretação de nossos resultados. Uma limitação encontrada para a interpretação dos nossos dados refere-se ao fato de que nossos experimentos foram realizados em animais anestesiados, um estado que sabidamente pode interferir com os diferentes parâmetros cardiovasculares avaliados. Além disso, as respostas cardiovasculares provocadas por angiotensinas centralmente ou a reatividade das diferentes vias eferentes podem ser modificadas pelo anestésico. O anestésico escolhido, a uretana é muito utilizada em experimentos com animais, principalmente por causa de sua ação anestésica de longa duração e propriedades relaxantes da musculatura esquelética (STROBEL e WOLLMAN, 1969). Além disso, a uretana produz uma condição de anestesia cirúrgica que é caracterizada por apenas uma pequena diminuição da atividade do sistema nervoso autônomo, o que torna este anestésico um dos mais apropriados para o estudo da função cardiovascular (MAGGI e MELI, 1986). A uretana produz depressão tanto das respostas pressoras como depressoras decorrentes da estimulação do SNC. Assim, o efeito depressor da uretana não é seletivo, isto é, tanto as respostas pressoras como as depressoras são afetadas de maneira semelhante, ao passo que outros anestésico (que atuam mais mimetizando ou aumentando os efeitos do GABA no SNC) abolem seletivamente as respostas depressoras e as convertem, frequentemente em episódios pressores (LALLEY, 1980). Por outro lado, os estudos de microinjeção no SNC em animais não anestesiados envolvem a implantação crônica de cânulas metálicas (MICHELINI e BONAGAMBA, 1990; LACERDA, 1996; FONTES e cols., 1997) que determinam uma lesão mecânica mais extensa no tecido a ser estudado. As micropipetas de vidro usadas em nossos experimentos possuem um diâmetro que variavam entre 100 a 150 μm , produzindo um dano mínimo às áreas circunvizinhas à microinjeção.

Uma outra questão que sempre é levantada em estudos de microinjeção central é a possibilidade de que parte do efeito observado seja devido a um extravasamento do peptídeo para a periferia. Na periferia, a Ang II produz aumento da pressão arterial decorrente de uma potente vasoconstrição, através da ativação de subtipo de receptores AT₁ de angiotensina (OSEI e cols., 1993; PORSTI e cols., 1994 ; BROSNIHAN e cols., 1996). Desta forma, a possibilidade de que os efeitos produzidos pela Ang II e seu antagonista de receptor AT₂, PD123319, na VLM possam ser devido a um extravasamento deste peptídeo para a periferia é muito pequena, principalmente devido à ação hipotensora da Ang II na CVLM (ALZAMORA e cols., 2002 e 2006).

5.1 AVALIAÇÃO DE DIFERENTES PARÂMETROS DA HIPERTENSÃO RENOVASCULAR

5.1.1 Pletismografia de Cauda

Os resultados do presente estudo mostram, em relação ao desenvolvimento da hipertensão mensurada pela avaliação da PA através da pletismografia de cauda, realizada semanalmente após a realização das cirurgias (2R1C e Sham) que houve um aumento significativo da PA já na primeira semana após a cirurgia nos grupos 2R1C, sedentário e ativo em relação ao grupo Sham. Observou-se também que o grupo 2R1C ativo apresentou durante as duas primeiras semanas valores de PA mais elevados que o grupo 2R1C sedentário, sendo que esta diferença deixou de existir na terceira semana e retornou a aparecer na quarta semana, porém em sentido contrário, ou seja, ocorreu uma redução de PA dos ratos 2R1C ativos em relação aos ratos 2R1C sedentários.

Nossos dados corroboram com trabalhos anteriores, uma vez que a partir da terceira semana após as cirurgias e da atividade física, os ratos dos grupos 2R1C sedentário e ativo, apresentaram valores de PA semelhantes e na quarta semana após as cirurgias e atividade física, os ratos 2R1C ativos apresentaram valores de PA inferiores aos observados nos animais hipertensos sedentários. Esses dados sugerem um processo de adaptação ocorrido nos animais hipertensos submetidos ao exercício físico e mostram também que a atividade física de baixa intensidade foi efetiva em reduzir os níveis de hipertensão. Também em nosso estudo, os valores de PA elevados a partir da primeira semana após a cirurgia, observado nos animais submetidos à cirurgia 2R1C (sedentários e Ativos) sugerem um aumento nos níveis de Ang II circulantes.

Está estabelecido que SRA possui um importante papel na regulação da PA durante o desenvolvimento da hipertensão renovascular (DeFORREST e cols.1982). No

modelo de hipertensão renovascular unilateral (2R1C de Goldblatt) a estenose da artéria renal estimula o SRA. A contribuição do SRA neste modelo varia dependendo do tempo decorrido após a constrição da artéria renal (MARTINEZ-MALDONADO, 1991). Na fase aguda da hipertensão 2R1C, a atividade da renina plasmática está elevada e o aumento da PA é dependente do SRA. PLOTH, 1983 e MITCHELL e colaboradores, 1995 mostraram que os efeitos diretos e indiretos do aumento das concentrações de Ang II circulante conjuntamente aos aumentos dos níveis circulantes de aldosterona e da atividade aferente simpática, dependentes da ação da Ang II, contribuem para a incapacidade excretória do rim não-clipado. Estas interações contribuem para o desenvolvimento dos estágios iniciais da hipertensão Goldblatt 2R1C, quando a atividade plasmática da renina e as concentrações circulantes de angiotensina estão elevadas. No entanto, as concentrações dos níveis plasmáticos da atividade da renina e Ang II normalizam na fase crônica na hipertensão 2R1C apesar da manutenção dos elevados níveis de PA (OKAMURA e cols. 1986 e NISHIMURA e cols. 1992).

Embora a Ang II ligue-se aos subtipos de receptor tipo I (AT₁) e tipo II (AT₂), é o receptor AT₁ que media a maioria dos seus efeitos cardiovasculares que podem levar à hipertensão, 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 dentre outros (NICKENIG e HARRISON, 2002a, b).

WARREN e colaboradores, 2001, mostraram que o exercício físico induz um aumento nos níveis de Ang II circulantes bem como a liberação de noradrenalina pelos neurônios simpáticos pós-ganglionares. Este aumento nos níveis circulantes de Ang II e da atividade simpática durante o exercício contribui para as respostas pressoras observadas durante a atividade física. Desta forma, os níveis de PA significativamente elevados nos ratos 2R1C Ativos em relação aos ratos 2R1C sedentários, talvez se deva ao aumento dos níveis de Ang II e da atividade simpática ocorrida na fase inicial da atividade física (1^a e 2^a semanas de treinamento) em adição ao aumento de Ang II circulante em decorrência da estenose renal (cirurgia 2R1C).

HAYASHI e colaboradores, 2000, mostraram que o treinamento físico diminui significativamente a atividade e a concentração plasmática da renina. As alterações da atividade da renina plasmática durante o treinamento físico estão relacionadas com o ganho da capacidade física, uma vez que maior a capacidade física menor é o nível da atividade da renina plasmática (HESPEL e cols., 1988). BRAITH e colaboradores, 1999, observaram que após o treinamento físico as concentrações plasmáticas de Ang II, aldosterona, vasopressina e hormônio natriurético atrial (ANH) diminuem durante o repouso e em exercício nos pacientes com insuficiência cardíaca.

5.1.2 Ingestão Hídrica

Com relação à Ingestão hídrica, que foi avaliada semanalmente, observamos uma ingestão de água aumentada nos grupos 2R1C, sedentário e ativo e também no grupo Sham ativo. Durante a primeira e segunda semanas após as cirurgias (2R1C e Sham) e da atividade física, o aumento da ingestão hídrica observado nos grupos Sham ativo, 2R1C sedentário e ativo, se deve, muito provavelmente, ao aumento dos níveis de Ang II circulante, em decorrência da atividade física e da hipertensão renovascular.

Na terceira semana após a realização das cirurgias (2R1C e Sham), foi observado que os ratos Sham têm sua ingestão hídrica significativamente similar aos ratos Sham sedentários, indicando que para este grupo de animais a adaptação à atividade físico ocorre na terceira semana após a cirurgia fictícia (Sham). Entretanto, no grupo 2R1C, sedentário e ativo, na terceira semana após a cirurgia, ainda há uma ingestão hídrica elevada em relação ao grupo Sham.

Porém, na quarta semana após a realização da cirurgia 2R1C, observamos uma redução na ingestão hídrica do grupo 2R1C ativo, que passa a apresentar uma ingestão semelhante a dos animais do grupo Sham, sedentários e ativos. Os ratos 2R1C sedentários, no entanto, na quarta semana após a cirurgia mantêm valores elevados de ingestão hídrica. De forma diferente, os ratos 2R1C ativos diminuíram a ingestão hídrica, após quatro semanas de atividade física, provavelmente devido à redução dos níveis circulantes das substâncias do SRA como Ang II, renina e aldosterona em decorrência de uma adaptação à atividade física (HESPEL e cols., 1988; BRAITH e cols., 1999 e HAYASHI e cols., 2000).

Os mecanismos que mantêm a homeostase hidroeletrólítica ainda não são bem entendidos. A normalidade hidroeletrólítica e suas conseqüências fisiológicas têm constituído o foco de muitos estudos. A ingestão hídrica, muitas vezes tem sido vista como um dos muitos mecanismos regulatórios do volume e da osmolaridade corporal (JORDAN e cols, 200).

Diversos peptídeos vasoativos, dentre eles a Ang II, que circulam no plasma e são produzidos em diversos tecidos inclusive o cérebro (STANDAERT e cols., 1988) também atuam no SNC alterando a ingestão hídrica (SAMSON e cols., 1991). Existem diversas vias centrais peptidérgicas que são capazes de modular a ingestão hídrica e podem exercer um papel sobre a PA e regulação osmótica. Esses diversos sistemas peptidérgicos podem modular a ingestão hídrica através de alterações na função barorreceptora e da regulação da osmolaridade do fluido extracelular (MURPHY e cols., 1995).

A restrição ao fluxo sanguíneo renal que ocorre na hipertensão renovascular (1R1C ou 2R1C) aumenta imediatamente os níveis plasmáticos de renina e Ang II que causa alteração na ingestão de água e sódio correlacionado a vários estágios dessa hipertensão.

No modelo 2R1C em que a isquemia de um dos rins não afeta todo o tecido renal (ver adiante nossa discussão sobre a histologia renal), os níveis circulantes de renina e Ang II permanecem elevados por muito tempo para depois diminuírem, ocorre inicialmente maior retenção de água e sódio sem que ocorra aumento do volume sanguíneo (FAZAN e cols., 2001). Porém, a retenção de sódio nem sempre tem sido observada (FITZSIMONS e TURKISH, 1989). Dentro de poucas horas e por até duas ou três semanas após a cirurgia para a realização da clipagem do rim, ocorre aumento da ingestão de água sendo que a ingestão de sódio se mantém inalterada. A remoção do clip ou altas doses de captropil, substância que impede a formação de Ang II, após sete ou 14 dias da contração renal restaura a PA e a excessiva ingestão de água. A Ang II estimula o aumento da ingestão de água por agir diretamente em estruturas no cérebro ou indiretamente através de seus efeitos sobre o balanço hidroeletrolítico. Em adição, trabalhos que mostram aumentos da ingestão de sódio sugerem um efeito direto da Ang II ou indireto através da estimulação da aldosterona (FAZAN e cols., 2001). Em estágios crônicos (acima de quatro semanas) da hipertensão renovascular ocorre persistente elevação da ingestão de sódio e relativa aversão ao sódio (FORMAN e FALK, 1979). Nossos dados estão de acordo com estes autores e mostram que ratos com hipertensão 2R1C, na primeira, segunda, terceira e quarta semanas após a cirurgia ocorre um aumento da ingestão de água nos ratos sedentários, sendo que atividade física reduz esta ingestão somente na quarta semana da cirurgia. Porém, em nosso estudo, não avaliamos a ingestão de sódio.

KRAEMER e cols., 1999, em um estudo realizado com homens adultos, mostraram que o exercício físico afeta dramaticamente a secreção hormonal e a regulação dos fluidos corporais, uma vez que aumenta os níveis plasmáticos de noradrenalina, dopamina, peptídeo atrial e ácido láctico. Em adição, durante a atividade física, ocorre também aumento do metabolismo corporal que pode aumentar a osmolaridade plasmática e estimular a ingestão hídrica.

Em nosso estudo, no entanto, acreditamos que o aumento da ingestão de água se deve em parte a um possível aumento da osmolaridade em decorrência do aumento do metabolismo e do aumento dos níveis plasmáticos de uréia (ver adiante na discussão), bem com a hiperatividade do SRA nos animais submetidos à atividade física e nos animais com hipertensão renal.

Há duas importantes alterações ocorridas durante a atividade física que atuam sobre o volume de líquidos corporal. A primeira se refere ao aumento da osmolaridade plasmática e a segunda ao aumento da acidose plasmática. Esses parâmetros estão aumentados principalmente devido ao aumento de células vermelhas no sangue durante a atividade física em alta intensidade e estão moderadamente alterados em atividade física de baixa e média intensidade. Durante a atividade física de alta intensidade a osmolaridade

plasmática pode aumentar cerca de até 40 mosmol/ Kg H₂O. A causa do aumento da osmolaridade não é devido ao aumento da concentração de eletrólitos tais como Na⁺, K⁺ ou Cl⁻. Os movimentos dos íons são acompanhados por movimentos da água, uma vez que existe uma grande permeabilidade para a água nas células musculares (SEJERSTED e cols. 1982). Assim, como os íons são seguidos pela água, a osmolaridade permanece inalterada, apesar dos volumes dos compartimentos internos poderem estar alterados. A causa para o aumento da osmolaridade é devido ao aumento da produção de metabólitos dentro das células musculares. Parte dos metabólicos (lactato e produtos da quebra de fosfocreatina) acumula-se dentro das células, aumentando o transporte de água do espaço intersticial e do sangue para dentro das células (BÖNING e cols., 1984) e consequentemente, aumentando a osmolaridade plasmática.

5.1.3 Avaliação do peso Corporal

Com relação ao peso corporal dos animais experimentais, que foi avaliado semanalmente, nossos resultados mostram que o exercício físico de baixa intensidade ao qual os ratos Sham e 2R1C foram submetidos, não promoveu alterações de peso em relação aos animais do grupo Sham sedentários.

Embora exista uma relação clássica entre exercício físico e ganho de massa muscular ou ganho de peso, dados da literatura (MEDEIROS e cols., 2004 e EVANGELISTA e cols., 2003) em camundongos e ratos Wistar jovens utilizando protocolo de treinamento com carga de 2 a 5% do peso corporal não observaram aumento de peso corporal dos animais em relação aos animais sedentários. Em nossos estudos, utilizando protocolo de atividade física de baixa intensidade, em que não foi utilizado sobrecarga de peso, também não foi observado ganho de peso nos animais. Corroborando com esses dados, a análise histológica qualitativa que foi realizada nesses animais não nos permitiu observar alterações significativas com relação à hipertrofia muscular, aumento de fibras ou mesmo células musculares.

No entanto, os animais 2R1C sedentários na primeira e segunda semana após a cirurgia 2R1C apresentaram redução do peso corporal, provavelmente devido ao estresse produzido pela cirurgia 2R1C, porém os animais 2R1C ativos não apresentaram redução de peso, talvez porque a atividade física tenha melhorado as condições físicas desses animais no período pós-operatório.

Esta redução no peso dos ratos 2R1C sedentários na 1^a e 2^a semanas após a cirurgia, sugere que os níveis elevados de Ang II, que caracterizam esse modelo de hipertensão, possam interferir no processo de cicatrização da cirurgia abdominal pelas ações pró-inflamatórias da mesma. A Ang II possui um significativo papel na iniciação e manutenção dos processos inflamatórios. A inibição das ações da Ang II por inibidores da

ECA e por antagonistas de Ang II bloqueia os efeitos anti-hipertensivos e anti-inflamatórios da Ang II (FERRARIO e STRAWN, 2006).

Em relação aos ratos 2R1C ativos, alguns dados na literatura nos induzem a pensar que a atividade física tenha melhorado as condições físicas desses animais no período pós-operatório. A concentração de cortisol aumenta muito em exercícios de longa duração e em menor quantidade em exercícios de curta duração (60 minutos) (CHRISTENSEN e cols., 1983). Não há dúvidas que a atividade física altera a concentração de células imunocompetentes e influencia a função imunológica (CANNON e KLUGER, 1984; ILBACK e cols., 1991). Estes efeitos são mediados por diversos fatores incluindo a indução da liberação de citocinas e os clássicos hormônios estimulados por estresse (catecolaminas, hormônio do crescimento, cortisol, glutamina e outros). Em geral, exercícios de grande intensidade e longa duração induz imunossupressão e aumenta a susceptibilidade à doenças infecciosas, enquanto exercício de baixa ou moderada intensidade parece aumentar a resistência à infecções (CANNON & KLUGER, 1984; ILBACK e cols., 1991).

5.1.4 Avaliação do Peso dos Rins

O peso seco relativo do rim esquerdo (clipado) dos ratos 2R1C foi menor que o peso seco relativo do rim direito (não clipado). O rim direito, contralateral, dos ratos 2R1C, sedentários e ativos, foi maior quando comparado com rim direito de ratos Sham, sugerindo uma hiperfunção compensatória. Nos animais do grupo Sham não houve diferença entre o peso seco relativo dos rins direito e esquerdo destes animais.

Em adição, a porcentagem de redução do peso seco relativo do rim esquerdo (clipado) sobre rim direito (não-clipado) no grupo 2R1C, sedentário e ativo foi similar. Nossos dados mostram que embora o percentual de redução do rim clipado em relação ao não clipado, seja semelhante entre os ratos do grupo 2R1C (sedentários e ativos), os animais hipertensos ativos apresentam valores de PA reduzidos em relação aos ratos 2R1C sedentários, sugerindo que a cirurgia para produção da hipertensão 2R1C foi eficiente tanto nos ratos 2R1C sedentários como nos 2R1C ativos e a redução da PA se deve realmente à atividade física de baixa intensidade. Como era de se esperar, não foi observada diferença na porcentagem de redução entre os pesos secos relativos dos rins direito e esquerdo dos ratos Sham.

LUPU e colaboradores, 1972, mostraram que reduções muito intensas no fluxo renal unilateral (maior que 50%) podem levar a estados hipertensivos mais prolongados, sendo a severidade da hipertensão proporcional ao grau de obstrução da artéria renal. Em nosso estudo, no entanto, não analisamos o fluxo sanguíneo renal, porém, percebemos, através da análise histológica, que animais que apresentaram um percentual de redução do peso

seco relativo do rim esquerdo em relação ao direito, superior a 40% apresentavam comprometimento da estrutura renal, com intensa degeneração, inflamação, pigmentação, calcificação e fibrose. Os animais do nosso estudo que apresentaram comprometimento estrutural do órgão, ou seja, pontos visíveis de isquemia, foram excluídos. Uma intensa constrição da artéria renal pode levar a um comprometimento funcional do rim e não caracteriza o modelo 2R1C.

A análise histológica das estruturas renais do rim esquerdo (não clipado) nos permite observar que as raras alterações patológicas (esclerose glomerular e inflamação) presentes no grupo Sham sedentário apresentaram-se diminuídas ou ausentes no grupo Sham ativo. Foi observado um aumento da dilatação tubular nos ratos Sham ativos. Acreditamos que este aumento na dilatação tubular esteja relacionado a um aumento no fluxo sanguíneo neste órgão, efeito proveniente do exercício físico e que não necessariamente está relacionado com comprometimento no funcionamento do órgão.

Já no grupo hipertenso, a análise histológica do rim esquerdo (clipado) mostrou que praticamente todos os parâmetros avaliados (congestão, degeneração tubular focal, fibrose, inflamação e dilatação tubular) apresentaram-se elevados nos ratos 2R1C sedentários em relação aos ratos Sham sedentários, no entanto, esses parâmetros foram reduzidos no grupo 2R1C ativo, mostrando que o exercício físico foi eficiente em reduzir os efeitos deletérios impostos ao rim clipado no modelo de hipertensão 2R1C. Foi observado um aumento da esclerose glomerular nos ratos 2R1C sedentários em relação aos ratos Sham. Com relação à presença de depósitos protéicos apenas o grupo hipertenso sedentário teve essa alteração manifestada tanto no rim esquerdo quanto no direito.

A análise histológica do rim direito (não-clipado), no grupo Sham ativo, foi observada redução da congestão, esclerose glomerular e inflamação quando comparado com os animais do grupo Sham sedentário. Já com relação à degeneração tubular focal e dilatação tubular, foi observado aumento desses parâmetros no grupo Sham ativo em relação aos Sham sedentários. Acreditamos que este aumento da dilatação tubular esteja relacionado a um aumento no fluxo sanguíneo neste órgão, efeito proveniente do exercício físico e que não necessariamente está relacionado com comprometimento no funcionamento do órgão. Em relação à degeneração tubular focal, vale lembrar que este processo nem sempre culmina em morte celular, com fibrose e comprometimento na capacidade funcional do órgão. O processo degenerativo geralmente é uma reação celular a algum agente externo que de alguma forma possa estar dificultando o seu funcionamento, diante desta dificuldade que lhe está sendo imposta a célula tem como se adaptar e voltar a funcionar normalmente ou então, perdendo totalmente sua função.

De forma semelhante ao observado no grupo Sham ativo, no grupo hipertenso houve aumento na manifestação de alguns parâmetros (degeneração tubular focal,

esclerose glomerular e inflamação) e redução na manifestação de outros (congestão e fibrose) quando comparamos os animais do grupo 2R1C ativo com os 2R1C sedentários. Neste caso, o exercício parece estar de alguma forma retardando um processo patológico, pois embora no grupo ativo tenha mais degeneração tubular focal e mais inflamação, a quantidade de células fibrosadas diminui no grupo 2R1C ativo em relação aos sedentários. Estudos posteriores se fazem necessários a fim de verificar se mantendo-se o treinamento físico por mais algumas semanas estas células teriam uma tendência de recuperação ou se o exercício, na verdade implicaria, em um fator de agravamento de processos patológicos renais preexistentes. Com relação à dilatação tubular não houve alteração com relação a este parâmetro neste grupo de animais.

Uma avaliação histológica geral do rim esquerdo (clipado) em relação ao rim direito (não clipado) mostra maior comprometimento patológico do rim clipado em relação ao rim não clipado e fazendo uma correlação com nossos dados em que o rim contra-lateral (não clipado) apresentou aumento do peso seco, podemos sugerir uma hiperfunção compensatória. Esses dados (menor comprometimento patológico e aumento do peso seco do rim não clipado) talvez possam estar relacionados a dados da literatura que sugerem que o rim não clipado seja o responsável pela manutenção da hipertensão no modelo 2R1C (NAVAR e cols., 1998)

5.1.5 Avaliação do Peso do Coração

Ainda em se tratando de peso de órgãos, nossos resultados mostram que houve hipertrofia cardíaca, ou seja, aumento no peso seco do coração nos grupos Sham ativo, 2R1C sedentário e 2R1C ativo.

Em nosso estudo, a hipertrofia cardíaca nos ratos 2R1C, sedentários e ativos, foi devido a um aumento no peso seco dos ventrículos em relação ao grupo Sham. No entanto, no grupo Sham ativo, a hipertrofia cardíaca ocorreu devido a um aumento no peso seco dos átrios. Resultado semelhante foi observado por EVANGELISTA e colaboradores, 2003, em estudos realizados com camundongos e utilizando sobrecarga de peso de 2 a 4% do peso corporal submetidos a natação duas vezes ao dia por 60 minutos e por 6 semanas. Apesar dessa diferença encontrada por nós, em relação ao peso dos átrios em ratos normotensos ativos, devemos considerar a grande dificuldade metodológica em separar os átrios devido sua estrutura anatômica.

A análise histológica das estruturas cardíacas mostra uma redução na degeneração cardíaca nos ratos Sham ativos quando comparados com os animais Sham sedentários, mostrando a eficiência do exercício físico em reduzir eventuais alterações patológicas em

animais normotensos. Não foi observada alteração na inflamação ventricular focal no grupo Sham ativo em relação ao grupo Sham sedentário, porém foi observado um espessamento excêntrico da parede ventricular, aumento a luz do órgão, no grupo Sham ativo em relação aos ratos sedentários (Sham e 2R1C). Este achado é importante porque embora não tenhamos observado bradicardia de repouso no grupo normotenso ativo esta alteração na morfologia cardíaca é também um indicador de adaptação crônica ao exercício físico.

Já no grupo hipertenso, a análise histológica mostra que no grupo 2R1C ativo foi observada uma redução no espessamento da parede ventricular e vascular em comparação aos ratos 2R1C sedentários. Este achado também lança nova luz sobre nossos resultados, mostrando que a hipertrofia concêntrica, que reduz sobremaneira a luz do coração, dificultando o trabalho cardíaco se encontra reduzida no grupo 2R1C ativo.

Também no grupo hipertenso ativo foi observada uma redução na fibrose e um aumento na degeneração e inflamação ventricular focal em comparação aos animais 2R1C sedentários. Neste caso, mais uma vez, de forma semelhante aos processos patológicos e degenerativos observados nos rins, o exercício parece estar de alguma forma retardando um processo patológico, pois embora o grupo ativo apresente mais degeneração cardíaca e mais inflamação, a quantidade de células fibrosadas diminui no grupo 2R1C ativo em relação aos sedentários. Contudo, estudos posteriores se fazem necessários a fim de verificar se mantendo-se o treinamento físico por mais algumas semanas estas células teriam uma tendência de recuperação ou se o exercício, na verdade, implicaria em um fator de risco e agravamento de processos patológicos cardíacos preexistentes.

Nossos resultados corroboram com trabalhos anteriores que mostram que a hipertrofia cardíaca pode acontecer como uma resposta adaptativa fisiológica (atividade física) ou patológica (doenças valvulares, hipertensão ou obesidade) ao aumento do trabalho cardíaco (HUNTER e cols., 1999 e SCHEUER e cols., 1982). Durante a atividade física o aumento metabólico induz um aumento do débito cardíaco levando, em curto prazo, ao incremento da PA, FC, contratilidade do miocárdio e aumento da resistência periférica total. Em logo prazo, o exercício físico melhora a função cardíaca por alterar o fenótipo celular e molecular dos miócitos cardíacos, incluindo alterações adaptativas no tamanho da célula, função contrátil, transporte de cálcio e resistência para alterações metabólicas. Em ratos saudáveis ocorre um aumento tempo dependente na massa cardíaca e do tamanho das células durante o treinamento físico. O aparente crescimento longitudinal dos cardiomiócitos por acréscimos de sarcômeros em série são evidentes em estudos sobre o efeito do treinamento físico sobre a massa de miocárdio (WISLOFF e cols., 2001). Este mecanismo celular induz uma hipertrofia ventricular excêntrica que ocorre em humanos e animais submetidos a programas de treinamento físico. Estudos de SCHAIBLE e SCHEUER, 1981, demonstraram que em ratos o treinamento físico com natação pode

promover um aumento na relação peso coração sobre o peso corporal em valores que variam de 12 a 31%. Os cardiomiócitos constituem cerca de 75% do volume total do miocárdio, mas corresponde somente a um terço de todas as células (BRAUNWALD, 1997). O tamanho da célula varia consideravelmente no mesmo coração e depende se trata-se de um coração normal, submetido à atividade física ou doente.

EVANGELISTA e cols., 2003, mostraram que a natação é bem reconhecida por ser efetiva em induzir a hipertrofia do miocárdio do ventrículo esquerdo e aumentar o volume diastólico final em ratos (GEENEN e cols., 1988). A natação se mostra mais efetiva na produção da bradicardia de repouso do que a corrida (SCHAIBLE e SCHEUER, 1979). Contudo, os mecanismos envolvidos na bradicardia produzida pela natação ainda não são totalmente compreendidos.

5.1.6 Avaliação da Creatinina Plasmática

Neste estudo a dosagem de creatinina plasmática foi utilizada como um indicador de treinamento e ganho de massa muscular, uma vez que existe uma correlação entre concentração de creatinina e índice de massa corporal (IMC) em atletas de elite oriundos de diferentes esportes caracterizados por diferentes treinamentos, em intensidades variadas e envolvendo tanto o metabolismo aeróbico como anaeróbico (BANFI e cols., 2006).

Em nosso estudo, os níveis séricos de creatinina nos ratos 2R1C (sedentários e ativos) foram similares aos níveis de creatinina nos animais Sham (sedentários e ativos) mostrando que nem a hipertensão 2R1C, nem a atividade física de baixa intensidade alteraram os níveis séricos de creatinina.

5.1.7 Avaliação da Uréia Plasmática

Em nosso estudo, a dosagem sérica de uréia foi significativamente diferente entre os grupos de animais, tanto comparando o efeito da hipertensão renovascular (Sham sedentários e 2R1C sedentários) como o efeito do treinamento (Sham ativos e 2R1C ativos). Estas diferenças foram significativas em relação à hipertensão 2R1C e ao treinamento. FAZAN e colaboradores, 2001, mostraram que a função renal, em termos de uréia e creatinina sanguíneas bem como o “clearance” de inulina ou p-aminopurato é normal na hipertensão de Goldblatt, tanto 2R1C como 1R1C, nossos dados estão de

acordo com FAZAN e colaboradores em relação à creatinina, porém contrários em relação à uréia.

Muitos estudos têm indicado que o exercício aumenta a concentração sérica de uréia, a excreção urinária e as perdas através do suor. Além disso, tem-se mostrado que a ureagênese aumenta durante o exercício (WASSERMAN e cols, 1991). A captação de aminoácidos pelo fígado aumenta durante o exercício em cães, sugerindo que estes aminoácidos sejam usados para aumentar a gliconeogênese durante o exercício (WASSERMAN e cols. 1991). De acordo com esses dados, foi reportado que a glicose administrada com aminoácidos antes ou durante o exercício reduz a ureagênese hepática devido a redução na gliconeogênese hepática, em comparação com a administração isolada de aminoácidos (HAMADA e cols, 1998). Além do aumento na gliconeogênese a formação de uréia também precisa ser aumentada para processar a amônia liberada pelo músculo em atividade (FERREIRA e cols. 1998).

5.2 AVALIAÇÃO DIRETA DOS PARÂMETROS CARDIOVASCULARES

Em síntese, os resultados obtidos no presente estudo demonstram que o exercício físico de baixa intensidade é efetivo em reduzir a PA, a FC e em restaurar a sensibilidade da bradicardia barorreflexa em ratos com hipertensão renovascular. Além disso, a Ang II microinjetada na CVLM produz um efeito hipotensivo similar em ratos Sham e 2R1C, sedentários e ativos. Este efeito hipotensivo foi significativamente bloqueado pelo antagonista, PD123319, em ratos Sham e 2R1C, sedentários e ativos. Em adição, o antagonista de receptor AT₂ para Ang II, PD123319, induziu uma redução na PA, após sua microinjeção na CVLM de ratos 2R1C sedentários, sendo que este efeito hipotensivo foi atenuado nos ratos 2R1C submetidos à atividade física de baixa intensidade.

5.2.1 Avaliação da PAM e FC

Em nosso estudo foi observada uma significativa redução da PAM e FC somente nos animais 2R1C submetidos à atividade física e não foram observadas diferenças significativas na PA e FC no grupo Sham, sedentários ou ativos. Apesar da diminuição da FC cardíaca ser considerada um marcador de atividade física, a anestesia, em nosso estudo, pode ter impedido a diminuição da FC no grupo Sham ativo, conforme já discutimos em considerações metodológicas. O fato da FC basal não ter sido alterada no grupo Sham ativo está de acordo com estudos prévios, realizados também com ratos anestesiados (BECKER e cols., 2005 e CARVALHO e cols., 2003).

O endotélio possui uma importante participação na regulação do fluxo sanguíneo e da PA. O tônus vascular está sobre o controle de fatores locais e sistêmicos, e é o resultado entre o balaço de substâncias vasodilatadoras e vasoconstritoras. Localmente, a autorregulação do tônus vascular ocorre especialmente em resposta a estímulos mecânicos. Dados da literatura (HILTON, 1959) em vasos da coronária epicárdica sugerem que o exercício físico induz aumento do “shear stress” no endotélio que é proporcional à vasodilatação. O mecanismo pelo qual o estímulo mecânico estimula o aumento do fluxo sanguíneo devido ao aumento da vasodilatação não está ainda bem entendido, mas parece que a deformação do citoesqueleto provocada pelo “shear stress” induz a liberação de substâncias vasodilatadoras tais como, óxido nítrico, prostaciclina (PGI₂), bradicinina, etc e por outro lado, diminui substâncias vasoconstritoras tais como, endotelina, fatores de ativação plaquetárias dentre outras (CINES e cols., 1998).

Está bem estabelecido o papel do treinamento físico como modulador da PA, enfatizando a importância do esporte como um mecanismo terapêutico. Investigações (LAUGHLIN e McALLISTER, 1992) mostram a parede vascular como alvo de ação do exercício físico e das várias adaptações benéficas ao exercício físico crônico. Apesar do efeito agudo aumentando o fluxo sanguíneo, evidências sugerem que aumentos crônicos do fluxo sanguíneo induzidos por atividade física regular, exercem um efeito benéfico sobre a reatividade vascular. Esta adaptação tem sido sugerida no sentido de aumentar as respostas vasodilatadoras e atenuar a vasoconstrição por agentes vasoativos (LAUGHLIN e McALLISTER, 1992).

Estudos em SHR têm mostrado que o exercício físico de baixa intensidade é efetivo na redução da FC e do DC, atenuando, conseqüentemente, a hipertensão em SHR (VÉRAS-SILVA e cols., 1997 e TIPTON, 1999). Nossos dados, no grupo 2R1C ativo, estão de acordo com esses autores, pois a atividade física de baixa intensidade foi efetiva em reduzir a PAM e FC, melhorando a função cardiovascular em ratos com hipertensão renovascular.

Para elucidar os mecanismos através dos quais o exercício físico de baixa intensidade causa a bradicardia, uma variedade de estudos (GAVA e cols., 1995 e KRIEGER e cols., 1999) tem mostrado uma atenuação no tônus simpático, mas não no tônus vagal, que se mantém inalterado, em ratos SHR. Acredita-se que o exercício físico de baixa intensidade é capaz de trazer o tônus simpático para níveis normais. Um aumento na bradicardia de repouso após o exercício tem sido observado em estudos com hipertensos (PAGANI e cols., 1988 e KRIEGER e cols., 1999).

A avaliação da PA antes (medida indireta – pletismografia) e após a anestesia mostrou que nos animais 2R1C (sedentários e ativos) após duas horas da anestesia apresentaram diminuição significativa da PAM, sendo que nos animais dos grupos Sham

(sedentários e ativos) não apresentaram alteração da PAM após duas horas sob anestesia, sugerindo que somente os ratos com hipertensão renovascular sofram interferência do anestésico. Essa interferência do anestésico sobre a PAM dos ratos 2R1C provavelmente deva acontecer sobre a hiperatividade simpática que acontece nesse modelo de hipertensão. MINAMI e colaboradores, 2003 mostraram em SHR um maior nível de PAM e FC mensurados indiretamente através da plestimografia de cauda em relação à medida direta (transdutor de pressão) em ratos acordados e sugeriram que durante a medida indireta ocorra um aumento da atividade simpática devido ao estresse da metodologia como restrição, calor e manuseio.

5.2.2 Administração Intravenosa de Ang II iv

Com o objetivo de verificar se a atividade física poderia alterar o efeito provocado pela injeção intravenosa Ang II e PD123319, nós avaliamos as alterações nos valores basais de PAM e FC produzidas por injeções intravenosas de Ang II, pelo antagonista de receptor AT_2 , PD123319, em ratos Sham e 2R1C, sedentários e ativos.

Em nossos estudos o antagonista de receptor AT_2 , PD123319, periféricamente não alterou os níveis basais de PAM tanto nos grupos Sham como nos 2R1C, sedentários ou ativos. No grupo Sham sedentário, a injeção intravenosa de Ang II produziu efeito hipertensor que não foi abolido pela injeção intravenosa de PD123319, mostrando que o antagonista de receptor AT_2 é incapaz de abolir o efeito pressor da Ang II periféricamente. Já no grupo Sham ativo, porém, o PD123319, administrado periféricamente, reduziu a resposta pressora induzida pela Ang II.

De modo semelhante ao grupo Sham sedentário, no grupo 2R1C a injeção intravenosa de PD123319 não foi capaz de abolir o efeito pressor da Ang II periféricamente. Também da mesma maneira observada no grupo Sham ativo, no grupo 2R1C ativo, a injeção intravenosa de PD123319 aboliu o efeito hipertensor da Ang II periféricamente. Nossos dados sugerem que atividade física de baixa intensidade altera a responsividade do receptor AT_2 periféricamente e de importantes vias do SRA que podem estar envolvidas nas adaptações cardiovasculares da atividade física de baixa intensidade sobre a PA.

A eficiência da Ang II como substância vasoconstritora já está bem estabelecida na literatura, 1 μ g pode aumentar a PA do ser humano em 10 a 20 mmHg em algumas condições. Além disso, a Ang II é um peptídeo hormonal com importantes ações cardiovasculares, endócrinas e metabólicas, incluindo constrição de vasos sanguíneos, neuromodulação, apetite pelo sal, estimulação simpática, equilíbrio hidroeletrólítico e manutenção da homeostase através da liberação de aldosterona, além de efeitos diretos nos rins e fígado, como aumento da reabsorção de sódio, gliconeogênese e glicogenólise,

respectivamente. Estas ações são mediadas principalmente pelo receptor do tipo AT₁ cuja expressão em humanos é determinada por um único gene, mas que em roedores se manifesta sob a forma de dois subtipos específicos, AT_{1A} e AT_{1B} (THOMAS e QIAN, 2003).

Q. LI e colaboradores, 1996, examinaram os mecanismos que mediam a hipertensão em ratos acordados durante a infusão aguda e crônica de Ang II (50, 100 e 200 ng/ kg/ min) e verificaram que a Ang II age primeiramente no músculo liso vascular durante a infusão aguda, aumentando a resistência vascular periférica, e posteriormente, através de vias neurais, durante o tratamento crônico.

Na tentativa de elucidar os mecanismos vasculares envolvidos nas respostas de cada subtipo de receptor para Ang II, JÖHREN e colaboradores., 2004, verificaram que a Ang II em baixas concentrações inibe a produção de NO, sendo, neste caso, a vasodilatação mediada via receptor AT₁ e produção de superóxido. Em altas concentrações, estes efeitos são antagonizados por efeitos vasodilatadores via ativação de receptor AT₂. Sendo assim, a Ang II pode exercer efeitos opostos via receptor AT₁ e AT₂ que podem estar envolvidos na via das cininas e do NO.

De acordo com nossos dados, o antagonista de receptor AT₂, PD123319, periféricamente, não alterou os níveis basais de PAM tanto nos grupos Sham como nos 2R1C, sedentários ou ativos. Estudos usando antagonistas farmacológicos de receptor AT₂ concluíram que este receptor não está envolvido na regulação da PA em animais normotensos e hipertensos (TONEY e PORTER, 1993). Porém, CERVENKA e colaboradores, 2002, mostraram a importância do receptor AT_{1A} para o surgimento e manutenção da hipertensão 2R1C. Neste mesmo estudo, a infusão aguda de PD123319 (50 µg/kg de peso corporal/ min) não alterou significativamente a PA em camundongos que possuíam o receptor AT_{1A}. Já nos animais “knockout” para o receptor AT_{1A} a infusão de PD123319, pelo contrário, causou um significativo aumento na PA dos animais, mostrando que em situações específicas o receptor AT₂ pode participar da regulação aguda da PA.

Em relação ao efeito da inibição da ação da Ang II pelo PD123319 em ratos hipertensos, observada nos animais submetidos à atividade física, não existem dados na literatura e mais estudos são necessários para melhor compreensão de nossos resultados.

5.2.3 Bradicardia Reflexa

Em nosso estudo a bradicardia reflexa dos animais 2R1C sedentários foi significativamente menor em comparação aos ratos SHAM sedentários, como extensivamente mostrado em estudos prévios da literatura (MOREIRA e cols., 1988; MATSUMURA e cols., 1989; KUMAGAI e cols., 1990; BRITO e cols., 1997 e KRIEGER e cols., 1999). A redução do reflexo barorreceptor em hipertensos está associado ao aumento da atividade simpática. É interessante observar que as áreas do SNC desprovidas de

barreira hemato-encefálica, estão suscetíveis à modulação pelas angiotensinas circulantes, cujos níveis estão aumentados em ratos com hipertensão 2R1C. Várias áreas “fora da barreira hemato-encefálica” participam da modulação do barorreflexo, como a área postrema que possui conexões com outras áreas bulbares relacionadas com a regulação cardiovascular (BARNES e cols., 1984). Portanto, os nossos resultados sugerem que as angiotensinas circulantes exerçam influência sobre a modulação central do barorreflexo, ou a funcionalidade do SRA cerebral esteja também alterado ou ambos os fatores ocorrendo no sentido de diminuir a sensibilidade barorreflexa neste modelo de hipertensão.

No entanto, o exercício físico de baixa intensidade foi efetivo em reduzir a elevada PA e restaurar a sensibilidade da bradicardia barorreflexa em ratos com hipertensão renovascular. Estes achados estão de acordo com prévios estudos (TIPTON, 1999 e VÉRAS-SILVA e cols., 1997) que mostram que o exercício físico pode provocar importantes alterações no sistema cardiovascular em animais e humanos com hipertensão.

Em SHR, no período pós-exercício, observou-se que a resposta bradicárdica apresenta-se aumentada, enquanto a resposta taquicárdica mantém-se reduzida (SILVA e cols., 1997 e KRIEGER e cols., 1999). Em adição, um aumento na complacência vascular também foi observada em humanos após o exercício (KRIEGER e cols., 1999). Um aumento no “*shear stress*” durante o exercício pode aumentar a liberação de fatores endoteliais (KRIEGER e cols., 1999). Todos estes mecanismos podem aumentar a sensibilidade dos barorreceptores arteriais aferentes, aumentando assim, a sensibilidade da bradicardia barorreflexa.

5.2.4 Bulbo Ventrolateral Caudal

Nossos resultados mostram que a microinjeção de Ang II na CVLM produz uma significativa redução na PAM no grupo 2R1C similar ao observado no grupo Sham, sugerindo que não exista uma significativa alteração na CVLM para Ang II exógena.

Diversos estudos (ISHIDE e cols., 2005 e ALLY e cols., 2006) têm avaliado o papel de áreas da VLM sobre a contração muscular estática, contudo, poucos estudos têm relacionado a interação entre o SRA e a VLM em animais submetidos à atividade física. BECKER e colaboradores, 2005, mostraram que o exercício físico induz alterações na resposividade à AngII na RVLM em ratos normotensos. Ao contrário, no presente estudo, nós observamos que a atividade física de baixa intensidade não modifica o efeito hipotensivo da Ang II microinjetada na CVLM de animais Sham e 2R1C.

O receptor AT_2 é moderadamente expresso em certos núcleos envolvidos na regulação cardiovascular como o lócus coeruleus, o núcleo para gigantocelular, o núcleo reticular medular, núcleo reticular lateral, o NTS e o núcleo ambíguo (LENKEI e cols., 1997 e VEERASINGHAM e cols., 2003) contudo, a contribuição do receptor AT_2 nestas áreas no

controle da PA ainda não está esclarecida. No presente estudo nós mostramos que o antagonista de receptor AT_2 para Ang II, PD123319, atenua significativamente o efeito da AngII na CVLM por 5 minutos em ratos Sham e 2R1C, sedentários e Ativos, e por 15 minutos apenas nos ratos do grupos Sham, sedentários e ativos e 2R1C ativo, sendo que nos ratos 2R1C sedentários este antagonista não aboliu o efeito hipotensor da Ang II na CVLM após 15 minutos. Após 30 minutos de sua microinjeção o PD123319 não foi capaz de bloquear significativamente o efeito da Ang II tanto no grupo 2R1C como no grupo Sham (sedentários e ativos).

Nossos dados sugerem, portanto, que o receptor AT_2 pode estar mediando, em parte, a ação hipotensiva à Ang II exógena na CVLM. AMBUHL e colaboradores, 1992 mostraram que a Ang II microinjetada no núcleo olivar inferior (NOI) tem um efeito excitatório e que este efeito é mediado por receptores AT_2 . Apesar do PD123319 ter inibido o efeito hipotensor da Ang II microinjetada na CVLM tanto nos animais Sham como nos 2R1C não podemos descartar completamente a possibilidade de que em nosso estudo a Ang II também possa estar agindo nos neurônios do NOI.

Nossos achados também revelam que a microinjeção de PD123319 na CVLM produziu um efeito depressor em ratos 2R1C sedentários que foi atenuado em ratos 2R1C ativos. Não foram observadas mudanças na PAM após a microinjeção de PD123319 na CVLM de ratos Sham, sedentários ou ativos. HU e colaboradores, 2002, mostraram um aumento na expressão de receptores AT_1 na RVLM de ratos hipertensos, talvez possa ocorrer, da mesma forma que ocorre na RVLM, um aumento na expressão de AT_1 na CVLM. Assim, o bloqueio do receptor AT_2 pelo PD123319 poderia aumentar a ligação de Ang II endógena ao receptor AT_1 na CVLM, resultando em um aumento no efeito hipotensivo.

Contudo, estudos anteriores realizados em nosso laboratório não suportam esta hipótese, uma vez que a microinjeção do antagonista de receptor AT_1 , losartan, na CVLM, não alterou a PAM de animais com hipertensão renovascular. Considerando que em muitas circunstâncias o PD123319 pode interferir na resposta de outros peptídeos ou mesmo apresentar um efeito agonista, estudos posteriores fazem-se necessários para que possamos esclarecer melhor estes achados.

Sumarizando nossos resultados, mostramos que a atividade física aeróbica de baixa intensidade provoca uma diminuição na PAM basal, restaura a bradicardia barorreflexa e não altera a responsividade à Ang II na CVLM em ratos com hipertensão 2R1C. Nossos dados, por outro lado, mostram alterações na responsividade do receptor AT_2 na CVLM que parecem estar envolvidas nos efeitos cardiovasculares da atividade física de baixa intensidade e importantes vias do SRA que podem participar na homeostase cardiovascular e na adaptação do exercício físico sobre a hipertensão renovascular.

SUMÁRIO E CONCLUSÕES

*De tudo ficaram três coisas:
a certeza de que estava sempre começando,
a certeza de que era preciso continuar
e a certeza de que seria interrompido antes de terminar.
Fazer da interrupção um caminho novo,
fazer da queda, um passo de dança,
do medo, uma escada,
do sonho, uma ponte,
da procura, um encontro.
(Fernando Sabino)*

6. SUMÁRIO E CONCLUSÕES

Em síntese, os resultados do presente estudo mostram:

- Os ratos 2R1C (sedentários e ativos) apresentaram aumento significativo da PA avaliada por pletismografia na 1ª semana após a cirurgia, em relação ao grupo Sham. Na 4ª semana ocorreu redução da PA dos ratos 2R1C ativos em relação aos ratos 2R1C sedentários.
- Os ratos Sham ativos apresentaram ingestão aumentada de água durante a 1ª e 2ª semanas de natação. De forma diferente, nos ratos 2R1C sedentários houve aumento da ingestão de água até a 4ª semana, enquanto que nos ratos 2R1C submetidos à atividade física houve redução a ingestão hídrica na 4ª semana.
- A porcentagem de redução do peso seco relativo dos rins foi similar entre os ratos 2R1C sedentários e ativos.
- Os ratos Sham ativos e 2R1C (sedentários e ativos) apresentaram hipertrofia cardíaca.
- Os níveis séricos de uréia foram significativamente aumentados nos ratos submetidos à atividade física (Sham e 2R1C).
- A atividade física somente reduziu a PAM e FC nos ratos 2R1C.
- A uretana alterou a PAM (após 2 horas) somente nos ratos 2R1C (sedentários e ativos).
- A bradicardia reflexa dos ratos 2R1C sedentários foi significativamente menor em relação aos ratos Sham sedentários. No entanto, o exercício físico de baixa intensidade foi efetivo em restaurar a sensibilidade da bradicardia reflexa nos ratos com hipertensão renovascular.
- A microinjeção de Ang II na CVLM produz uma significativa redução na PAM nos ratos 2R1C (sedentários e ativos) similar aos ratos Sham (sedentários e ativos).

- O antagonista de receptor AT_2 , PD123319, inibiu o efeito da Ang II na CVLM por até 15 minutos nos ratos Sham (sedentários e ativos) e 2R1C ativos. Porém, este antagonista, nos ratos 2R1C sedentários, foi eficaz apenas por 5 minutos.
- Surpreendentemente, a microinjeção de PD123319 na CVLM produziu um efeito depressor em ratos 2R1C sedentários que foi atenuado nos ratos 2R1C ativos. Não foram observadas mudanças significativas na PAM após a microinjeção de PD123319 na CVLM de ratos Sham, sedentários ou ativos.

Os resultados obtidos no presente estudo, mostram que o exercício físico de baixa intensidade provoca uma significativa melhora dos parâmetros cardiovasculares, acompanhada por uma alteração na responsividade dos receptores AT_2 nos neurônios da CVLM em ratos com hipertensão 2R1C. Além disso, os animais ativos com hipertensão 2R1C ou Sham apresentaram adaptações sobre a ingestão hídrica, hipertrofia cardíaca e níveis séricos de uréia, em decorrência da atividade física .

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGARWAL. SK., CALARESU, F.R. Reciprocal connections between nucleus tractus solitarii and rostral ventrolateral medulla. *Brain Res.* ,1990, 523: 305-308.

AGARWAL. SK., CALARESU, F.R.. Monosynaptic connections from caudal to rostral ventrolateral medulla in the baroreceptor reflex pathway. *Brain Res.*, 1991, 555: 70-74.

AGUAS, AP; NICKERSON, PA. Effect of verapamil on blood pressure and lesions in heart and kidney of rats made hypertensive by deoxycorticosterone. *Am. J. Pathol.*, 1991, Vol 110, 48-541983.

ALLEN A. M., MOELLER I., JENKINS T. A., ZHUO J., ALDRED G. P., CHAI S.Y., MENDELSON F.A.O. Angiotensin receptors in the nervous system. *Brais Res. Bull.* 1998, 47(1): 17-28.

ALLY A., PHATTANARUDEE S., KABADI S., PATEL M., MAHER T.J. Cardiovascular responses and neurotransmitter changes during static muscle contraction following blockade of inducible nitric oxide synthase (iNOS) within the ventrolateral medulla. *Brain Res.* 2006, 1090(1):123-33.

ALZAMORA, A.C.; SANTOS, M.J.; CAMPAGNOLE-SANTOS, M.J. Hypotensive effects of Ang II and Ang-(1-7) at the caudal ventrolateral medulla involves different mechanisms. *Am. J. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 2002, 283:R1187-R1195.

ALZAMORA, A.C., SANTOS, R.A.S., CAMPAGNOLE-SANTOS, M.J. Baroreflex Modulation by Angiotensins at the Rat Rostral and Caudal Ventrolateral Medulla. *Am J Physiol Regul Integr Comp. . Physiol*, 2006, 23: R1027- R1034.

AMBUHL P., FELIX D., IMBODEN H., KHOSLA M.C., FERRARIO C.M. Effects of angiotensin analogues and angiotensin receptor antagonists on paraventricular neurones. *Regul Pept.*, 1992, 38(2):111-120.

ARAKAWA, K. Antihypertensive mechanism of exercise. *J. Hypertension.* 1993.11: 223-229.

ASHTON, N.; Neurological and humoral control of blood pressure. *Anaesthesia & Intensive Care Medicine*, 2007, 8 (6): 221-226,

AVERILL, D.B., DIZ, D. Angiotensin peptides and baroreflex control of sympathetic outflow: Pathways and mechanisms of the medulla oblongata. *Brain Research Bulletin*, 2000. 51(2): 119-128.

BAGLIVO HP, FABREGUES G, BURRIEZA H, ESPER RC, TALARICO M, ESPER RJ. Effect of moderate physical training on left ventricular mass in mild hypertensive persons. *Hypertension*, 1990, (2 Suppl):1153-6.

BANFI G, DEL FABBRO M, LIPPI G. Relation between serum creatinine and body mass index in elite athletes of different sport disciplines. *Br J Sports Med.*, 2006, 40(8):675-8; discussion 678.

- BAO G, GOHLKE P, UNGER T. Kinin contribution to chronic antihypertensive actions of ace-inhibitors in hypertensive rats. *Agents actions suppl.*, 1992, 38 (pt 2):423-30.
- BARNES KL, FERRARIO CM, CHERNICKY CL, BROSNIHAN KB. Participation of the area postrema in cardiovascular control in the dog. *Fed Proc.*, 1984, Dec;43(15):2959-62.
- BLAIR SN, KOHL HW, PAFFENBARGER RS, CLARK DG, COOPER KH, GIBBONS LW. Physical fitness and all-cause mortality. A prospective study of healthy men and women. *JAMA.*, 1989, 262(17):2395-401.
- BLESSING WW, REIS DJ. Inhibitory cardiovascular function of neurons in the caudal ventrolateral medulla of the rabbit: relationship to the area containing A₁ noradrenergic cells. *Brain Res.*, 1982; 253:161-171.
- BLUME A., SANDMANN S., YU M., KASCHINA E., BOUZINOVA E., AALKJAER C., UNGER T. Differential effects of angiotensin AT1 and AT2 receptors on the expression, translation and function of the Na⁺-H⁺ exchanger and Na⁺-HCO₃⁻ symporter in the rat heart after myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol.*, 2001, 37:2154-2165.
- BÖNING D, GÖNEN Y, MAASSEN N. Relationship between work load, pedal frequency, and physical fitness. *Int J Sports Med.*, 1984, 5(2):92-7.
- BRAITH, R.; WELSCH, M.; FEIGENBAUM, M.; KLUSS, H.; PEPINE, C.; C. Neuroendocrine activation in heart failure is modified by endurance exercise training. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 1999, 34: 1170-5.
- BRAUNWALD E. A new treatment for hypertrophic cardiomyopathy? *Eur Heart J.*, 1997, (5):709-10, 1997.
- BRISTOW, J.D.; HONOUR, A.J.; PICKERING, G.W.; SLEIGHT, P.; SMYTH H.S. Diminished Reflex Sensitivity in High Blood Pressure. *Circulation*, 1969.39: 48-54.
- BRITTO, R.R., SANTOS, R.A.S., FAGUNDES-MOURA, C.R., KHOSLA, M.C., CAMPAGNOLE-SANTOS, M.J. Role of Angiotensin-(1-7) in the Modulation of the Baroreflex in Renovascular Hypertensive Rats. *Hypertension*. 1997. 30:549-556.
- BRODY M. J., VARNER K. J., VASQUEZ E. C. E LEWIS S. J. Central nervous system and the pathogenesis of hypertension. Sites and mechanisms. *Hypertension*. 1991. 18 (suppl. 5): III7-12.
- BROSNIHAN, K.B., LI, P., FERRARIO, C.M. Angiotensin-(1-7) dilate canine coronary arteries through kinins and nitric oxide. *Hypertension*. 1996. 27:523-8.
- BROWN JJ, CASALS-STENZEL J, CUMMING AM, DAVIES DL, FRASER R, LEVER AF, MORTON JJ, SEMPLE PF, TREE M, ROBERTSON JI. Angiotensin II, aldosterone and arterial pressure: a quantitative approach. Arthur c. Corcoran memorial lecture. *Hypertension*. 1979; 1(3):159-79
- BRUM, P.; SILVA, G.; MOREIRA, E.; IDA, F.; NEGRÃO, C.; KRIEGER, E. Exercise training increases baroreceptor gain sensitivity in normal and hypertension rats. *Hypertension* 2000. 36: 1018-1022.

- BUMPUS, F.M., CATT, K.J., CHIU, A.T., DeGASPARO, M., GOODFRIEND, T., HUSSAIN, A., PEACH, M.J., TAYLOR, D.G.; TIMMERMANS, P.B.M.W.M. Nomenclature for angiotensin receptor. *Hypertension*. 1991. 17:720-723
- CAMERON, J. D.; DART, A.M. Exercise training increases total systemic arterial compliance in humans. *Am. J. Physiol*. 1994. 266: 693-701.
- CAMPAGNOLE-SANTOS, MJ; HAIBARA, AS. Reflexos cardiovasculares e hipertensão arterial, rev bras hipertens., 2001. 8: 30-40.
- CAMPBELL, D. J. Circulating and tissue angiotensin systems. *J.Clin. Invest*. 1987.79:1-6.
- CANNON JG, KLUGER MJ. Exercise enhances survival rate in mice infected with *Salmonella typhimurium*. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1984;175(4):518-21.
- CARVALHO T.H.F., BERGAMASCHI C.T., LOPES O.U., CAMPOS R.R. Role of endogenous Angiotensin II on Glutamatergic Actions in the Rostral Ventrolateral Medulla in Goudblatt hypertensive rats. *Hypertension* 2003. 42 [part 2]:707-712.
- CERVENKA, L.; HORÁČEK, V.; VANECKOVÁ, I.; HUBACÉK, J.A.; OLIVERIO, M.I.; COFFMAN, T.M.; NAVAR, L.G. Essencial role of AT1A receptor in the development of 2k1c hypertension. *Hypertension* 2002. 40: 735-741
- CHAN RK, CHAN YS, WONG TM. Responses of cardiovascular neurons in the rostral ventrolateral medulla of the normotensive wistar kyoto and spontaneously hypertensive rats to iontophoretic application of angiotensin ii. *Brain res*. 1991;556(1):145-50.
- CHOQUETTE G, FERGUSON RJ. Blood pressure reduction in "borderline" hypertensives following physical training. *Can Med Assoc J*. 1973;108(6):699-703.
- CHRISTENSEN NJ, GALBO H. Sympathetic nervous activity during exercise. *Annu Rev Physiol*. 1983;45:139-53.
- CINES DB, POLLAK ES, BUCK CA, LOSCALZO J, ZIMMERMAN GA, MCEVER RP, POBER JS, WICK TM, KONKLE BA, SCHWARTZ BS, BARNATHAN ES, MCCRAE KR, HUG BA, SCHMIDT AM, STERN DM. Endothelial cells in physiology and in the pathophysiology of vascular disorders. *Blood*. 1998;91(10):3527-61.
- CLAUSEN JP, LARSEN OA, TRAP-JENSEN J. Physical training of patients with coronary sclerosis. *Nord Med*. 1969;82(33):1005-11.
- COMTOIS R, BERTRAND S, BEAUREGARD H, VINAY P. Low serum urea level in dehydrated patients with central diabetes insipidus. *CMAJ*. 1988;139(10):965-9.
- CRAVO, S.L., MORRISON, S.F.; REIS, D. Differentiation of two cardiovascular regions with caudal ventrolateral medulla. *Am. J. Physiol*. 1991. 261 (Regulatory Integrative Comp. Physiol. 30): R985-R994
- DAMPNEY, R.A.L. Funcional organization of central pathways regulating the cardiovascular system. *Physiol Rev*. 1994. 74 (2): 323-364.
- DeFORREST JM, KNAPPENBERGER RC, ANTONACCIO MJ, FERRONE RA, CREEKMORE JS. Angiotensin II is a necessary component for the development of hypertension in the two kidney, one clip rat. *Am J Cardiol*. 1982;49(6):1515-7.

- DICKINSON CJ, LAWRENCE JR. A slowly developing pressor response to small concentrations of angiotensin. Its bearing on the pathogenesis of chronic renal hypertension. *Lancet*. 1963;1:1354-6.
- DUCAN, J.J.; FARR J.E.; UPTONS J.; HAGAN, R.D; OGLESBY, M. E.; BLAIR, S. N. The effect of aerobic exercise on plasma catecholamine and blood pressure in patients with mild essential Hypertension. *Jama*. 1985. 254: 2609-2613.
- DZAU VJ. Significance of the vascular renin-angiotensin pathway. *Hypertension*. 1986 (7):553-9.
- DZAU V. J. Circulating versus local renin angiotensin system in cardiovascular homeostasis. *Circulation* 1988. 77: 14-113.
- EVANGELISTA FS, BRUM PC, KRIEGER JE. Duration-controlled swimming exercise training induces cardiac hypertrophy in mice. *Braz J Med Biol Res*. 2003 Dec;36(12):1751-9.
- FALCON JC, PHILLIPS MI, HOFFMAN WE, BRODY MJ. Effects of intraventricular angiotensin ii mediated by the sympathetic nervous system. *Am j physiol*. 1978;235(4):h392-9
- FAZAN, R.J.; SILVA, V.J.D.; SALGADO, H.C. Modelos de hipertensão arterial. *Rev Bras Hipertens* 8: 19-29, 2001.
- FELDMAN, J.L; ELLENBERGER, H.H. Central coordination of respiratory and cardiovascular control in mammals. *Annu. Rev. Physiol*. 1988. 50: 593-606
- FERRARIO, C. M., DICKINSON, C. J.; McCUBBIN, J.W. Central vasomotor stimulation by angiotensin. *Clin. Sci*. 1970 . 39: 239-245
- FERRARIO C. M. Importante of renin-angiotensin-aldosterone system (RAS) in the physiology and pathology of hypertension. *Drugs* 1990a. 39 (suppl. 2): 1-8.
- FERRARIO C. M., BARNES K. L., BLOCK C. H., *et al*. Pathways of angiotensin formation and function in the brais. *Hypertension* 1990b. 15: 113-119.
- FERRARIO CM, STRAWN WB. Role of the renin-angiotensin-aldosterone system and proinflammatory mediators in cardiovascular disease. *Am J Cardiol*. 2006;98(1):121-8.
- FERREIRA EB, CEDDIA RB, CURI R, ALONSO MI, LOPES G, BAZOTTE RB. Swimming-exercise increases the capacity of perfused rat liver to produce urea from ammonia and L-glutamine. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol*. 1998 Dec;102(3):289-303.
- FITZSIMONS JT, TURKISH S. Renin in the control of drinking behaviour in the earliest stages of renal hypertension in the rat. *Acta Physiol Pol*. 1989;40(3):324-8.
- FONTES, M.AP., SILVA, L.C.S., CAMPAGNOLE-SANTOS, M.J., KHOSLA, M.C., GUERTZENSTEIN, P.G., SANTOS, R.A.S. 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*. 1994. 665:175-180.
- FONTES MAP, MARTINS PINGE MC, NAVES V, CAMPAGNOLE-SANTOS MJ, LOPES OU, KHOSLA MC & SANTOS RAS. Cardiovascular effects produced by microinjection of angiotensins and angiotensin antagonists into the ventrolateral medulla of freely moving rats. *Brain Res* 1997. 750, 305-310.

- FORMAN S, FALK JL. NaCl solution ingestion in genetic (SHR) and aortic-ligation hypertension. *Physiol Behav.* 1979 (2):371-7.
- FREITAS, O. C. *et al.* Prevalência da hipertensão Arterial sistêmica na população Urbana de Catanduva, SP. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia* 2001. 77: 9-15.
- FRIEDMAN DB, PEEL C, MITCHELL JH. Cardiovascular responses to voluntary and nonvoluntary static exercise in humans. *J Appl Physiol.* 1992 Nov;73(5):1982-5.
- GAFFNEY FA, SJØGAARD G, SALTIN B. Cardiovascular and metabolic responses to static contraction in man. *Acta Physiol Scand.* 1990; 138(3):249-58.
- GAVA NS, VÉRAS-SILVA AS, NEGRÃO CE, KRIEGER EM. Low-intensity exercise training attenuates cardiac β -adrenergic tone during exercise in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension.* 1995;26(pt 2):1129–1133.
- GEENEN D, BUTTRICK P, SCHEUER J. Cardiovascular and hormonal responses to swimming and running in the rat. *J Appl Physiol.* 1988;65(1):116-23.
- GOLDBLATT H., LYNCH J., HANZAL R. F., SUMMERVILLE W. W. Studies on experimental hypertension: I. the production of persistent elevation of systolic blood pressure by means of renal ischemia. *J. Exp. Med.*, 1934. 59: 347.
- GOLDSCHMIDT JE, TALLARIDA RJ. Pharmacological evidence that captopril possesses an endothelium-mediated component of vasodilation: effect of sulfhydryl groups on endothelium-derived relaxing factor. *J pharmacol exp ther.* 1991;257(3):1136-45.
- GORDON, F.J. Aortic baroreceptor reflex are mediated by NMDA receptors in caudal ventrolateral medulla. *Am. J. Physiol.* 1987. 252 (Regulatory Integrative Comp. Physiol. 21): R628-R633
- GRASSI, G.; SERAVALLE, G.; CALHOUN, D. A.; MANCIA G. Physical training baroreceptor control of sympathetic nerve activity in humans. *Hypertension.* 1994. 23: 294-30.
- GUERTZENSTEIN, P.G.; SILVER, A. Fall in Blood Pressure Produced from Discrete Regions of the Ventral Surface of the Medulla by Glycine and Lesions. *J. Physiol..London.*; 1974. 242: 489-503.
- GUO, G. B., ABOUD, F.M. Angiotensin II attenuates baroreflex control of heart rate and sympathetic activity. *Am. J. Physiol.*: 1984. 246 (Heart Circ. Physiol. 15): H80-H89
- GUTKIND JS, KURIHARA M, SAAVEDRA JM. Increased angiotensin ii receptors in brain nuclei of doca-salt hypertensive rats. *Am j physiol.* 1988 sep;255(3 pt 2):h646-50
- GUYENET, P.G. Role of ventrolateral medulla in blood pressure regulation, in: AD. Loewy, K.M., Spyer (Eds.), Central regulation of autonomic functions, *Oxford Univ. Press., New York*, 1990. 145-167
- GYURKO R, WIELBO D, PHILLIPS MI. Antisense inhibition of at1 receptor mRNA and angiotensinogen mRNA in the brain of spontaneously hypertensive rats reduces hypertension of neurogenic origin. *Regul pept.* 1993;49(2):167-74.
- HAGBERG JM, MONTAIN SJ, MARTIN WH, EHSANI AA. Effect of exercise training in 60- to 69-year-old persons with essential hypertension. *Am J Cardiol.* 1989;64(5):348-53.

- HAGBERG, J. M.; Exercise, fitness, and hypertension. In: BOUCHARD, C.; SHEPHARD R.J.; STEPHENS, T.; SUTTON, J.R.; McPHERSON B.D. Exercise, Fitness, and Health: A consensus of current knowledge. Toronto, Canada: Humans Kinectics Books: 1990. 455-466.
- HAMADA K, MATSUMOTO K, MINEHIRA K, DOI T, OKAMURA K, SHIMIZU S. Effect of glucose on ureagenesis during exercise in amino acid-infused dogs. *Metabolism*. 1998;47(11):1303-7.
- HARTMANN U, MESTER J. Training and overtraining markers in selected sport events. *Med Sci Sports Exerc.*, 2000;32(1):209-15
- HAYASHI, A.; KOBAYASHI, A.; TAKAHASHI, R.; Suzuki, F.; NAKAGAWA, T.; KIMOTRO, K. Effects of voluntary running exercise on blood pressure and rennin-angiotensin system in spontaneously hypertensive rats normotensive Wistar-Kyoto rats. *J. Ntr. Sci. Vitaminol.*, 2000. 46 (4): 165-70.
- HESPEL, P.; LIJNEN, P.; Hoof, V.; FAGARD, R.; GOOSSENS, W.; LIESSENS, W.; MOERMAN, E.; AMERY, A. Effects of physical endurance training on the plasma rennin-angiotensin-aldosterone system in normal man. *Endocrinol.*, 1988.116 (3):443-449.
- HILGERS KF, HARTNER A, PORST M, VEELKEN R, MANN JF. Angiotensin II type 1 receptor blockade prevents lethal malignant hypertension: relation to kidney inflammation. *Circulation.*, 2001;104(12):1436-40.
- HILTON SM. A peripheral arterial conducting mechanism underlying dilatation of the femoral artery and concerned in functional vasodilatation in skeletal muscle. *J Physiol.*, 1959;149:93-111.
- HOPKINS, D.A; ARMOUR, J.A Medullary cells of origin of physiologically identified cardiac nerves in the dog. *Brain Res. Bull.*, 1982. 8: 359-365
- HU, L., ZHU, D., YU, Z., WANG, J.Q. Expression of angiotensin II type 1 (AT1) receptor in the rostral ventrolateral medulla in rats. *J. Appl. Physiol.*, 2002. 92: 2153-2161.
- HUNTER JJ, CHIEN KR. Signaling pathways for cardiac hypertrophy and failure. *N Engl J Med.*, 1999; 341(17):1276-83.
- ILBÄCK NG, CRAWFORD DJ, NEUFELD HA, FRIMAN G. Does exercise stress alter susceptibility to bacterial infections? *Ups J Med Sci.*, 1991;96(1):63-8.
- IRIGOYEN, MC; CONSOLIM-COLOMBO, FM; KRIEGER, EM. Controle cardiovascular: regulação reflexa e papel do sistema nervoso simpático; *rev brás hipertens* 8: 55-62, 2001
- ISHIDE T, PREUSS CV, MAHER TJ, ALLY A . Neurochemistry within ventrolateral medulla and cardiovascular effects during static exercise following eNOS antagonism. *Neurosc Res.*, 2005;52:21-30.
- ITO S, KOMATSU K, TSUKAMOTO K, KANMATSUSE K, SVED AF. Ventrolateral Medulla AT1Receptors Support Blood Pressure in Hypertensive Rats. *Hypertension*, 2002;40:552.
- JAIN M, LIAO R, NGOY S, WHITTAKER P, APSTEIN CS, EBERLI FR. Angiotensin II receptor blockade attenuates the deleterious effects of exercise training on post-MI ventricular remodelling in rats. *Cardiovasc Res.*, 2000;46(1):66-72.

- JENNINGS G.L.; NELSON L.; DEWAR E.; KORNER P.; ESLER M.; LAUFER E. Antihypertensive and haemodynamic effects of one years regular exercise. *J. Hypertension.*, 1986. 4(suppl 6): 659-661.
- JOHNSTON, C. I. Biochemistry and pharmacology of the renin-angiotensin system. *Drugs*, 1990. 39 (suppl 1): 21-31
- JÖHREN O, DENDORFER A, DOMINIAK P. Cardiovascular and renal function of angiotensin II type-2 receptors. *Cardiovasc Res.*, 2004;62(3):460-467.
- JONES, J.M.; VIZCAINO, D.; DOWLING, T.C.; WEIR, M. R.; JOHNSON, J. J.; PARK, J.; HAND, B.D.; OBISESAN, T.; BROWN, M.D. Baseline serum creatinine levels predict renal hemodynamic response to short-term endurance exercise training in African American hypertensives. *American Journal of Hypertension*, 2003, 16 (5), Supplement 1: A95-A96.
- JORDAN, J.; SHANNON, J.R.; BLACK, B. K.; ALI, Y.; FARLEY, M.; COSTA, F.; DIEDRICH, A.; ROBERTSON, R.M.; BIAGGIONI, I.; ROBERTSON, D. The Pressor Response to Water Drinking in Humans : A Sympathetic Reflex? *Circulation*, 2000;101;504-509
- JUDY, W.V.; WATANABE, A.M.; HENRY, D.P.; BESCH, H.R.; MURPHY, W.R.; HOCKEL, G.M.; Sympathetic nerve activity: role in regulation of blood pressure in the spontaneously hypertensive rat. *Circ Res.*, 1976.38 (6 Suppl 2): 21-29.
- KAGIYAMA S.; VARELA A.; PHILLIPS M.I.; GALLI S.M. Antisense Inhibition of Brain Renin-Angiotensin System Decreased Blood Pressure in Chronic 2-Kidney, 1 Clip Hypertensive Rats. *Hypertension*. 2001;37:371-375
- KAPLAN NM. Changing hypertension treatment to reduce the overall cardiovascular risk. 1: *J Hypertens Suppl.*, 1990;8(7):S175-9.
- KHOSLA MC, HALL MM, SMEBY RR, BUMPUS FM. Agonist and antagonist relationships in 1- and 8-substituted analogs of angiotensin II. *J med chem.*, 1974;17(11):1156-60.
- KIRCHHEIM H.R. Systemic arterial baroreceptor reflex. *Physiol. Rev.*, 1976. 56: 100-176.
- KOPP, U. C.; BUCKLEY-BLEILER, R.L. Impaired Renorenal Reflexes in Two-Kidney, One Clip Hypertensive Rats. Iowa, 1989.
- KRAEMER WJ, FLECK SJ, MARESH CM, RATAMESS NA, GORDON SE, GOETZ KL, HARMAN EA, FRYKMAN PN, VOLEK JS, MAZZETTI SA, FRY AC, MARCHITELLI LJ, PATTON JF. Acute hormonal responses to a single bout of heavy resistance exercise in trained power lifters and untrained men. *Can J Appl Physiol.*, 1999;24(6):524-37.
- KRIEGER M. E.; BRUM C. P.; NEGRÃO C.E. Influence of exercise training on neurogenic control of blood pressure in spontaneously hipertensive rats. *Hypertension*, 1999. 34(2): 720-723.
- KRIEGER, E.M., FARAH V.M.A., MOREIRA E.D., PIRES M.D., IRIGOYEN M.C.C. Comparison of three methods for the determination of baroreflex sensitivity in conscious rats. *Braz J Med Biol Res*. 1999, 32(3) 361-369.
- KUMAGAI, K., SUZUKI, H., RYUZAKI, M. MATSUKAWA, S.; SARUTA, T. Baroreflex control of renal sympathetic nerve activity is potencionated at early phase of two-kidney, one-clip Goldblatt. hypertension in conscious rabbits. *Circulation Research*, 1990, 67: 1309-1322

- KUMAGAI, K., SUZUKI, H., ICHIKAWA, M., JIMBO, M., NISHIZAWA, M. RYUZAKI, M.; SARUTA, T. Comparasion of early and late start of antihypertensive agents and baroreflexes. *Hypertension*, 1996, vol. 27, No. 2: 209-219.
- LACERDA, J.E.C. O papel do bulbo rostroventrolateral na regulação da pressão arterial em ratos acordados. Master Thesis, Federal University of São Paulo, 1996, São Paulo, 67 pp.
- LALLEY, P.M. Inhibition of depressor cardiovascular reflexes by a derivate of γ -aminobutyric acid (GABA) and by general anesthetics with suspected GABA-mimetic effects. *J. Pharmac. Exp. Ther.*, 1980. 215: 418-425.
- LAUGHIN, M.H. & R.M. MCALLISTER. Exercise training-induced coronary vascular adaptation. *J. Appl. Physiol.*, 1992. 73 (6): 2209-25.
- LAUGHLIN h. Cardiovascular response to exercise. *Advances in Physiology Education.*, 1999. Vol. 22.
- LENKEI Z.; PALKOVITS M.; CORVOL P.; LLORENS-CORTES C. Expression of Angiotensin Type-1 (AT1) and Type-2 (AT2) Receptor mRNAs in the Adult Rat Brain: A Functional Neuroanatomical Review. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 1997, 18 (14) 383-439.
- LO, M.; LIU, K.-L; LANTELME, P.; SASSARD J. Subtype 2 of angiotensin II receptors coltrols pressure-natriuresis in rats. *J. Clin. Invest.*, 1995, 95: 1394-1397.
- LOENNECHEN JP, WISLØFF U, FALCK G, ELLINGSEN Ø. Cardiomyocyte contractility and calcium handling partially recover after early deterioration during post-infarction failure in rat. *Acta Physiol Scand.*, 2002;176(1):17-26.
- LOEWY, AD.; WALLACH, J.H.; MCKELLAR, S. Efferent connections of the ventral medulla oblongata in the rat. *Brain Res. Rev.*, 1981. 3: 63-80.
- LUNDIN S, RICKSTEN SE, THOREN P. Renal sympathetic activity in spontaneously hypertensive rats and normotensive controls, as studied by three different methods. *Acta physiol scand.*, 1984;120(2):265-72.
- LUPU AN, MAXWELL MH, KAUFMAN JJ, WHITE FN. Experimental unilateral renal artery constriction in the dog. *Circ Res.*, 1972;30(5):567-74.
- MAGALDI, J.B. Relatório de um estudo sobre nutrição realizado sob os auspícios dos "Fundos Universitários de Pesquisa para Defesa Nacional", São Paulo Médico, 207, 1944.
- MAGGI, C.A, MELLI, A Suitabelity of urethane anesthesia for physiopharmacological investigation in various systems. *Cardiovascular System. Experientia*, 1986. (part2) 40: 51-59.
- MARTINEZ-MALDONADO M. Pathophysiology of renovascular hypertension. *Hypertension*. 1991;17(5):707-19.
- MATSUMURA, Y., HASSER, E. M., BISHOP, V.S. Central effect of angiotensin II on baroreflex regulation in conscious rabbits. *Am. J. Physiol.*, 1989. 256 (Regulatory Integrative Comp. Physiol. 25): R694-R700.
- McARDLE, D.; WILLIAM; KATCH, I.; FRANK; KATCH, L.; VICTOR. Fisiologia do exercício, Energia, Nutrição e Desempenho Humano. 4 ed. Rio de janeiro, Guanabara Koogan, 1998.

- MCCUBBIN JW, GREEN JH, PAGE IH. Baroreceptor function in chronic renal hypertension. *Circ Res.*, 1956;4(2):205-10.
- MEDEIROS, A.; OLIVEIRA, E.M.; GIANOLLA, R.CASARINI, D.E.; NEGRÃO, C.E. BRUM, P.C. Swimming training increases cardiac vagal activity and induces cardiac hypertrophy in rats. *Braz. J. Med. Boil. Res.*, 2004. 37: 1909-1917.
- MELARAGNO MG, FINK GD. Enhanced slow pressor effect of angiotensin ii in two-kidney, one clip rats. 1: hypertension. 1995;25(2):288-93.
- MICHELINE, F.AO., BONAGAMBA, G.H. Angiotensin II as a modulator of baroreceptor reflex in the brainstem of conscious rats. *Hypertension*. 1990. 15(Suppl I): I45-I50.
- MINAMI N, YOSHIKAWA T, KATAOKA H, MORI N, NAGASAKA M, KUROSAWA H, KANAZAWA M, KOHZUKI M. Effects of exercise and beta-blocker on blood pressure and baroreflexes in spontaneously hypertensive rats. *Am J Hypertens.*, 2003 ;16(11 Pt 1):966-72.
- MITCHELL K. D. E NAVAR L. G. (1995). Intrarenal actions of angiotensin II in the pathogenesis of experimental hypertension. In: *Hypertension: Pathophysiology, Diagnosis and Management*, editado por J. H. Laragh and B. M. Brenner. New York: Raven, 1995, p. 1437-1450.
- MOREIRA E.D., OLIVEIRA M., KRIEGER E.M. Impaired baroreflex control of heart rate in high-renin renal hypertension. *J Hypertens.*, 1988. 6(8):619-625.
- MORISHITA R, HIGAKI J, OKUNISHI H, NAKAMURA F, NAGANO M, MIKAMI H, ISHII K, MIYAZAKI M, OGIHARA T. Role of tissue renin angiotensin system in two-kidney, one-clip hypertensive rats. *Am J Physiol.*, 1993;264(3 Pt 2):F510-4.
- MORTON JJ, WALLACE EC. The importance of the renin-angiotensin system in the development and maintenance of hypertension in the two-kidney one-clip hypertensive rat. *Clin sci (lond).*, 1983;64(4):359-70
- MURATANI, H., FERRARIO, C.M. AVERILL, D.B., Ventrolateral medulla of spontaneously hypertensive rats: role of angiotensin II. *Am. J. Physiol.*, 1993. 264 (Regulatory Integrative Comp. Physiol. 33): R388-R395.
- MURPHY TC, SAMSON WK. The novel vasoactive hormone, adrenomedullin, inhibits water drinking in the rat. *Endocrinology*. 1995. Jun;136(6):2459-63.
- NAVAR L.G., ZOU L., THUN A.V., WANG C.T., IMIG J.D., MITCHELL K.D. Unraveling the Mystery of Goldblatt Hypertension. *News Physiol. Sci*. 1998. 13: 170-176.
- NEGRÃO C. E.; MOREIRA E.D.; SANTOS M.C.L.M.; FARAH V. M. A.; KRIEGER E. M. Vagal function impairment after exercise training. *J. Appl. Physiol.*, 1992. 72(5): 1749-1753.
- NEGRÃO, E.C.; IRIGOYEN, M.C.; MOREIRA, E.D.; BRUM, P.C.; FREIERE, P.M.; KRIEGER, E.M. Effect of exercise training on RSNA, baroreflex control, and blood pressure responsiveness. *Am. J. Physiol.*, 1993. 265 34:356-370.
- NEGRÃO C.E., KRIEGER E.M., BRUM P.C. Influence of Exercise Training on Neurogenic Control of Blood Pressure in Spontaneously Hypertensive Rats. *Hypertension*, 1999. 34:720-723.

- NEGRÃO, E.C.; URBANA, M.; RONDON, BP. Exercício físico, hipertensão e controle barorreflexo da pressão arterial. *Rev. Bras. Hipertens.*, 2001. 8: 89-95.
- NEUTEL J. M., SMITH D. H. G. Hypertension Control: Multifactorial contributions. *American Journal of Hypertension*, 1999. 12 (12): 169S.
- NICKENIG G., HARRISON D.G. The AT₁-type angiotensin receptor in oxidative stress and atherogenesis, part II: oxidative stress and atherogenesis. *Circulation*, 2002a. 105: 393-396.
- NICKENIG G., HARRISON D.G. The AT₁-type angiotensin receptor in oxidative stress and atherogenesis, part II: AT₁ receptor regulation. *Circulation*, 2002b. 105: 530-536.
- NISHIMURA M, MILSTED A, BLOCK CH, BROSNIHAN KB, FERRARIO CM. Tissue renin-angiotensin systems in renal hypertension. *Hypertension*. 1992 Aug;20(2):158-67.
- NOSAKA, S.; YAMAMOTO, T.; YASUNAGA, K. Localization of vagal cardioinhibitory preganglionic neurons within rat brain stem. *J. Comp. Neurol.*, 1972.186: 79-92.
- O'SULLIVAN, S.; BELL, C. The effects of exercise and training on human cardiovascular reflex control. *J. Autonomic Nervous System*, 2000. 81: 16-24.
- OKAMURA T, MIYAZAKI M, INAGAMI T, TODA N. Vascular renin-angiotensin system in two-kidney, one clip hypertensive rats. *Hypertension*. 1986 ;8(7):560-5.
- OLIVERIO MI, BEST CF, SMITHIES O, COFFMAN TM. Regulation of sodium balance and bloodpressure by the AT1A receptor for angiotensin II. *Hypertension*. 2000;35:550–554.
- OSEI, SY, AHIMA, R.S., MINKES, R.K., WEAVER, J.P., KHOSLA, M.C., KADOWITZ, P.J. Differential responses to angiotensin-(1-7) in the feline mesenteric and hindquarters vascular beds. *Eur J Pharmacol.*, 1993. 234:35-42.
- OVERTON JM, JOYNER MJ, TIPTON CM. Reductions in blood pressure after acute exercise by hypertensive rats. *J Appl Physiol.*, 1988;64(2):748-52.
- PAFFENBARGER RS, JUNG DL, LEUNG RW, HYDE RT. Physical activity and hypertension: an epidemiological view. *Ann Med.*, 1991;23(3):319-27.
- PAGANI M, SOMERS V, FURLAN R, DELL OS, CONWAY J, BASELLI G, CERTUTI S, SLEIGHT P. Changes in autonomic regulation induced by physical training in mild hypertension. *Hypertension*, 1988;12:600–610.
- PARKER, J. L., CL. OTMAN, J.M. MULLER et al. Effects of exercise training on regulation of tone in coronary arteries and arterioles. *Med Sci. Sports Exerc.*, 1994. 26 (10): 1252-1261.
- PAXINOS, G., WATSON, C. 1986. The rat brain in stereotaxic coordinates. *New York: Academic Press*.
- PERRONE RD, MADIAS NE, LEVEY AS. Serum creatinine as an index of renal function: new insights into old concepts. *Clin Chem.*, 1992 Oct;38(10):1933-53.
- PHILLIPS MI, KIMURA B. Converting enzyme inhibitors and brain angiotensin. *J cardiovasc pharmacol.*, 1986;8 suppl 10:s82-90.
- PHILLIPS, M.I. Functions of angiotensin in central nervous system. *Ann. Rev. Physiol.*, 1987. 49:413-435

- PLOTH D. W. Angiotensin-dependent renal mechanisms in two-kidney one-clip renal vascular hypertension. *Am. J. Physiol.*, 1983. 245 (Renal Fluid Electrolyte Physiol, 14): F131-F141.
- PORSTI, I.; BARA, AT.; BUSSE, R.; HECKER, M. Release of nitric oxide by angiotensin-(1-7) from porcine coronary endothelium: implications for a novel angiotensin receptor. *Br. J. Pharmacol.*, 1994. 111: 652-654.
- Q. LI, W. E. DALE, E. M. HASSER, E. H. BLAINE. Acute and chronic angiotensin hypertension: neural and nonneural components, time course, and dose dependency. *Am. J. Physiol., Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 1996; 271: R200-R207.
- ROMAN, O.; CAMUZZI, E.; VILLATON; KLENNER; Physical training program in arterial hypertension: a long-term prospective follow-up. *Cardiology*, 1981. 67: 230-242.
- ROSS, C.A.; RUGIERO, D.A.; JOH, T.H.; PARK, T.H.; REIS, D.J. Rostral ventrolateral medulla: selective projections to the thoracic autonomic cell column from the region containing C1 adrenaline. *J. Comp. Neurol.*; 1984a. 228: 168-185.
- ROSS, C.A.; RUGIERO, D.A.; JOH, T.H.; PARK, T.H.; REIS, D.J.. Tonic vasomotor control by the rostral ventrolateral medulla: effect of electrical or chemical stimulation of area containing C1 adrenaline neurons on arterial pressure heart rate and plasma catecholamines and vasopressin. *J. Neurosci.*; 1984b 4: 479-494.
- ROWELL LB, O'LEARY DS. Reflex control of the circulation during exercise: chemoreflexes and mechanoreflexes. *J Appl Physiol.*, 1990; 69 (2); 407-18.
- SABRY M. O. D., SAMPAIO H. A. C., SILVA M. G. C. Hipertensão e obesidade em um grupo populacional no nordeste do Brasil. *Revista de Nutrição*, 2001. 15(2): 132-147.
- SADJADI, J.; KRAMER, G.L.; YU, C.; WELBORN, M.B.; CHAPPELL, M.C.; MODRALL, G. Angiotensin converting enzyme-independent angiotensin II production by chymase is up-regulated in the ischemic kidney in renovascular hypertension. *Journal of Surgical Research*, 2005. 127: 65-69.
- SALTIN B, RADEGRAN G, KOSKOLOU MD, ROACH RC. Skeletal muscle blood flow in humans and its regulation during exercise. *Acta Physiol Scand*, 1998; 162 (3); 421-36.
- SAMANI NJ, SWALES JD, BRAMMAR WJ. A widespread abnormality of renin gene expression in the spontaneously hypertensive rat: modulation in some tissues with the development of hypertension. *Clin Sci (Lond)*., 1989 Dec;77(6):629-36.
- SAMSON WK, SKALA KD, HUANG FL. CNP-22 stimulates, rather than inhibits, water drinking in the rat: evidence for a unique biological action of the C-type natriuretic peptides. *Brain Res.*, 1991, 24;568(1-2):285-8.
- SANTOS R. A. S., BROSNIHAN K. B., CHAPPELL M. C., *et al.* Converting enzyme activity and angiotensin metabolism in dog brainstem. *Hypertension*, 1988. 11: 1153-1157.
- SANTOS R. S. A., CAMPAGNOLE-SANTOS M. J. Central and peripheral actions of angiotensin-(1-7). *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 1994. 27: 1033-1047.
- SCHAIBLE TF, SCHEUER J. Effects of physical training by running or swimming on ventricular performance of rat hearts. *J Appl Physiol.* 1979;46(4):854-60.

- SCHAIBLE TF, SCHEUER J. Cardiac function in hypertrophied hearts from chronically exercised female rats. *J Appl Physiol.*, 1981;50(6):1140-5.
- SCHEUER J, MALHOTRA A, HIRSCH C, CAPASSO J, SCHAIBLE TF. Physiologic cardiac hypertrophy corrects contractile protein abnormalities associated with pathologic hypertrophy in rats. *J Clin Invest.*, 1982;70(6):1300-5.
- SCHREIHOFFER AM AND GUYENET PG. Baro-activated neurons with pulse-modulated activity in the rat caudal ventrolateral medulla express GAD67 mRNA. *J Neurophysiol*, 2003. 89(3): 1265-77.
- SCHRÖR K. Role of prostaglandins in the cardiovascular effects of bradykinin and angiotensin-converting enzyme inhibitors. *J cardiovasc pharmacol.*, 1992;20 suppl 9:s68-73.
- SEJERSTED OM, MEDBØ JI, HERMANSEN L. Metabolic acidosis and changes in water and electrolyte balance after maximal exercise. *Ciba Found Symp.*, 1982;87:153-67.
- SEN S, SMEBY RR, BUMPUS FM, TURCOTTE JG. Role of renin-angiotensin system in chronic renal hypertensive rats. *Hypertension*. 1979;1(4):427-34.
- SESOKO, S., MURATAMI, H., TAKESHITA, S., TERUYA, H., KAWAZOE, N., FUKUYAMA, K. Modulation of baroreflex function by angiotensin II endogenous to the caudal ventrolateral medulla. *Brain Research*, 1995. 671: 38-44.
- SHEPHERD J. T. Reflex control of arterial blood pressure. *Cardiovasc. Res.*, 1982. 16: 357-370.
- SILVA LC, FONTES MAP, CAMPAGNOLE-SANTOS MJ, KHOSLA MC, CAMPOS JRRR, GUERTZENSTEIN PG, SANTOS RAS. Cardiovascular effects produced by microinjection of angiotensin-(1-7) on vasopressor and vasodepressor sites of the ventrolateral medulla. *Brain Res.*,1993; 613:321-325.
- SILVA, G.J.J.; BRUM, P.C.; NEGRÃO, E.C.; KRIEGER,E.M. Acute and Chronic effects of exercise on baroreflexes in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension*. 1997. 30:714-719.
- SKULAN TW, BROUSSEAU AC, LEONARD KA. Accelerated induction to two-kidney hypertension in rats and renin-angiotensin sensitivity. *Circ res.*, 1974;35(5):734-41.
- SMITH J.K., BARRON K.W. The rostral and caudal ventrolateral medulla in young spontaneously hypertensive rats. *Brain Res.*, 1990, 1;506(1):153-8.
- SPETH RC, KIM KH. Discrimination of two angiotensin ii receptor subtypes with a selective agonist analogue of angiotensin ii, p-aminophenylalanine6 angiotensin ii. *Biochem biophys res commun.*, 1990, 29;169(3):997-1006.
- STANDAERT DG, NEEDLEMAN P, DAY ML, WEIGAND R, KRAUSE JE. Expression of the gene for preproatrioepin in the central nervous system of the rat. *Brain Res.*, 1988; 464(1):7-13.
- STROBEL, M., WOLLMAN, H. Pharmacology of anesthetic agents. *Fedn. Proc.*, 1969, 28:1386-1403.

STROMBERG, C., NAVERI, L., SAAVEDRA, J.M. Nonpeptide angiotensin AT1 and AT2 receptors ligands modulate the upper limit of cerebral blood flow autoregulation in the rat, *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 1993, 13: 293-303.

SWEET CS, COLUMBO JM, GAUL SL. Central antihypertensive effects of inhibitors of the renin-angiotensin system in rats. *Am J Physiol.*, 1976;231(6):1794-9.

TEN BERG R, DE JONG W. Mechanism of enhanced blood pressure rise after re-clipping following removal of a renal artery clip in rats. *Hypertension.* 1980;2(1):4-13.

The fifth report of the joint national committee on prevention, detection, evaluation, and treatment of high blood pressure (JNC V). *Arch Intern Med.*, 1993, 153(2): 149-152.

The seventh report of the joint national committee on prevention, detection, evaluation, and treatment of high blood pressure. *JAMA*, 2003. 289(19): 2560-2570.

THOMAS WG, QIAN H. Arresting angiotensin type 1 receptors. *Trends endocrinol metab.*, 2003;14(3):130-6.

TIPTON C.M., OVERTON J.M., KREGEL K.C., DAVIS-GORMAN G., SEALS D.R., FISHER L.A. Effects of exercise training on responses to central injection of CRF and noise stress. *Physiol Behav.*, 1991, 49(1):93-98.

TIPTON C.M. Exercise training for the treatment of hypertension: a review. *Clin. J. Sports Med.*, 1999, 9 (2) 104.

TONEY GM, PORTER JP. Effects of blockade of AT1 and AT2 receptors in brain on the central angiotensin II pressor response in conscious spontaneously hypertensive rats. *Neuropharmacology.* 1993;32(6):581-9.

TONKS DB. Quality Control in Clinical Laboratories, Diagnostic Reagents Division, Scarborough. Canadá, 1972.

TONY, G.M., PORTER, J.P. Functional role of brain AT1 and AT2 receptors in the central angiotensin II pressor response. *Brain Res.*, 1993, 603: 57-63.

UNGER, T., BADOER, E., GANTEN, D., LANG, R.E., RETTIG, R. Brain angiotensin: pathways and pharmacology. *Circulation*, 1988. 77(suppl. I): I40-I54.

URATA H, TANABE Y, KIYONAGA A, IKEDA M, TANAKA H, SHINDO M, ARAKAWA K. Antihypertensive and volume-depleting effects of mild exercise on essential hypertension. *Hypertension.* 1987;9(3):245-52.

VEERASINGHAM S.J., RAIZADA M.K. Brain renin-angiotensin system dysfunction in hypertension: recent advances and perspectives. *British Journal of Pharmacology*, 2003. 139: 191-202.

VÉRAS-SILVA A.S., MATTOS K.C., GAVA N.S., BRUM P.C., NEGRÃO C.E., KRIEGER E.M. Low-intensity exercise training decreases cardiac output and hypertension in spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.*, 1997. 273: H2627-H2631.

WALLACE EC, MORTON JJ. Chronic captopril infusion in two-kidney, one clip rats with normal plasma renin concentration. *J hypertens.* 1984;2(3):285-9.

- WANG C., DOBRYNSKI E., CHÃO J. E CHÃO L. Adrenomedullin gene delivery attenuates renal damage and cardiac hypertrophy in Goldblatt hypertensive rats. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.*, 2001; 280: F964-F971.
- WARREN JH, LEWIS W, WRAA CE, STEBBINS CL. Central and peripheral effects of angiotensin II on the cardiovascular response to exercise. *J Cardiovasc Pharmacol.*, 2001;38(5):693-705.
- WASSERMAN DH, GEER RJ, WILLIAMS PE, BECKER T, LACY DB, ABUMRAD NN. Interaction of gut and liver in nitrogen metabolism during exercise. *Metabolism.*, 1991;40(3):307-14.
- WIELBO D, SERNIA C, GYURKO R, PHILLIPS MI. Antisense inhibition of hypertension in the spontaneously hypertensive rat. *Hypertension.* 1995;25(3):314-9.
- WILLIAN J. R., HARRISON T. R. & GROLLMAN A. A simple method for determining the systolic blood pressure of the unanesthetized rat. *J. Clin. Invest.*, 1939, 18: 373.
- WINDER WW, BEATTIE MA, HOLMAN RT. Endurance training attenuates stress hormone responses to exercise in fasted rats. *Am J Physiol.*, 1982;243(1):R179-84.
- WISLØFF U, HELGERUD J, KEMI OJ, ELLINGSEN O. Intensity-controlled treadmill running in rats: VO₂ max) and cardiac hypertrophy. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.*, 2001;280(3):H1301-10.
- WISLØFF U, LOENNECHEN JP, CURRIE S, SMITH GL, ELLINGSEN Ø. Aerobic exercise reduces cardiomyocyte hypertrophy and increases contractility, Ca²⁺ sensitivity and SERCA-2 in rat after myocardial infarction. *Cardiovasc Res.* 2002 Apr;54(1):162-74.
- WITEBREAD, S. ; MELE, M.; KAMBER, B., DE GASPARO, M. 1989 Preliminary biochemical characterization of two angiotensin II receptor subtypes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 163: 284-291.
- ZHANG XQ, NG YC, MUSCH TI, MOORE RL, ZELIS R, CHEUNG JY. Sprint training attenuates myocyte hypertrophy and improves Ca²⁺ homeostasis in postinfarction myocytes. *J Appl Physiol.*, 1998;84(2):544-52.
- ZHU Z, TEPEL M, NEUSSER M, MEHRING N, ZIDEK W. Effect of captopril on vasoconstriction and ca²⁺ fluxes in aortic smooth muscle. *Hypertension.* 1993;22(6):806-11.

ANEXOS

8. ANEXOS

PRODUÇÃO CIENTÍFICA ASSOCIADA A ESTA DISSERTAÇÃO

Artigo publicado:

RODRIGUES, MC, Campagnole-Santos MJ, Machado RP, Silva ME, Rocha JLM, Ferreira PM, Santos RAS, Alzamora AC, Evidence for a role of AT2 receptors at the CVLM in the cardiovascular changes induced by low-intensity physical activity in renovascular hypertensive rats. *Peptides*, doi:10.1016, 2007.

Resumos apresentados em eventos internacionais:

RODRIGUES, M.C., Machado, R.P., Silva, M.E., Rocha, J.L.M., Ferreira, P. M., Cardoso, V.R., Santos, R.A.S., Campagnole-Santos, M.J, Alzamora, A.C.; **Evaluation of Baroreflex Bradycardia en Renovascular Hypertensive Rats Submitted to Physical Activity**, XLI Congress of the Brazilian Physiological Society & Joint Meeting with The Physiological Society, Ribeirão Preto, 2006.

RODRIGUES, M. C., Machado, R.P., Silva, M.E., Rocha, J.L.M., Ferreira, P. M., Cardoso, V.R., Santos, R.A.S., Campagnole-Santos, M.J, Alzamora, A.C; **Cardiovascular effects induced by physical activity in renovascular hypertensive rats**, VI Internacional Symposium Vasoactive Peptides, Ouro Preto, 2006.

Resumos apresentados em eventos nacionais:

RODRIGUES, M. C., Campagnole-Santos, M.J, Machado, R.P., Silva, M.E., Rocha, J.L.M., FERREIRA, P., Santos, R.A.S., Alzamora, A.C.; **Atividade física de baixa intensidade restaura a sensibilidade da bradicardia reflexa em ratos com hipertensão renovascular**, XXII Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental, Águas de Lindóia, 2007.

RODRIGUES, M.C., Machado, R.P., Silva, M.E., Rocha, J.L.M., Ferreira, P. M., Cardoso, V.R., Santos, R.A.S., Campagnole-Santos, M.J, Alzamora, A.C.; **Avaliação cardiovascular em ratos com hipertensão renal submetidos a natação**, XI Simpósio Brasileiro de Fisiologia Cardiovascular, São Paulo, 2007.

ROCHA, J.L.M., Machado, R.P., Silva, M.E., Rodrigues, M.C., Santos, R.A.S., Campagnole-Santos, M.J, Alzamora, A.C.; **Avaliação da atividade física aeróbica de baixa intensidade sobre a pressão arterial em ratos com hipertensão 2R1C**, XIV Seminário de Iniciação Científica, Ouro Preto, 2006.

RODRIGUES, M.C., Machado, R.P., Silva, M.E., Rocha, J.L.M., Santos, R.A.S., Campagnole-Santos, M.J, Alzamora, A.C.; **Efeito da atividade física aeróbica de baixa intensidade sobre diferentes parâmetros cardiovasculares em ratos com hipertensão renovascular**, III Congresso Mineiro de Nutrição Clínica, II Congresso Mineiro de Nutrição Esportiva e I Congresso Mineiro de Obesidade, Belo Horizonte, 2006.